Über die Einwirkung verschiedener Gifte auf Algen, besonders auf Ankistrodesmus und Scenedesmus

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

genehmigt von der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

von

Dietrich Keyna
aus Berlin-Lichterfelde

Tag der Promotion: 28. 2. 1940
Tag der mündlichen Prüfung: 6. 12. 1939

Druck und Verlag: Bernhard Paul, Berlin SW 68, Wilhelmstraße 22 a

N 25

Meinen lieben Eltern

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Referenten: Prof. Dr. R. Kolkwitz
Prof. Dr. K. Noack

Aus Nr. 1/3, Jahrgang 16, 1940 der „Kleinen Mitteilungen" für die Mitglieder des Vereins für Wasser-, Boden- und Lufthygiene E. V., Berlin-Dahlem.

Vorwort.

Einleitung.

I. Methodisches.

1. Untersuchungsmaterial.
2. Kultur der Algen.
3. Nachweis der Schädigung und des Todes der Zellen.

II. Einfluß der Wasserstoffionen- und Hydroxylionenkonzentration auf Vermehrung und Form der Algen.

III. Untersuchungen über Giftwirkungen.

1. NaCl und KCl.
2. Organische Säuren:
   α) einbasische Fettsäuren,
   β) Dicarbon- und Oxysäuren,
   γ) Oxybenzoesäure (Salicylsäure).
3. Phenole.

IV. Zusammenfassung.

V. Schrifttum.

Vorwort

Die vorliegende Arbeit wurde in der Preußischen Landesanstalt für Wasser-, Boden- und Lufthygiene in Berlin-Dahlem ausgeführt. Herrn Prof. Dr. R. Kolkwitz, auf dessen Anregung hin sie entstand, gebührt für seine jederzeit hilfsbereite Unterstützung und Förderung im Verlauf der Arbeit mein verbindlichster Dank. Sodann danke ich Herrn Prof. Dr. Konrich, dem Vizepräsidenten der Preußischen Landesanstalt, für die Überlassung eines Arbeitsplatzes und die Erlaubnis zur Benutzung der Bücherei und der Apparaturen einzelner Abteilungen des genannten Institutes. Seit Beginn meiner Untersuchungen unterstützte mich Herr Dr. Bethge in nimmermüder, freundlichster Weise mit wertvollen Anregungen. Ich danke ihm an dieser Stelle besonders herzlich. Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. Noack für die Erlaubnis zur Benutzung der Bücherei des Pflanzen-Physiologischen Institutes in Berlin-Dahlem. Herrn Prof. Dr. Diels und Herrn Prof. Dr. O. C. Schmidt spreche ich für die Erlaubnis zur Benutzung der Bibliothek des Botanischen Museums in Berlin-Dahlem meinen Dank aus. Ferner bin ich den Herren Prof. Dr. Tiegs, Prof. Dr. phil. Beger und Dr. Krieger für mancherlei Ratschläge zu Dank verpflichtet. Den Herren Dr. Haase, Dr. Sander, Dr. Gad und Herrn Chemiker Marsson möchte ich für ihre freundliche Unterstützung bei Ausführung chemischer Untersuchungen herzlich danken. Für ihre stete Anteilnahme und wertvollen Hinweise sage ich Fräulein Dr. Wichmann meinen besten Dank. Bei Beschaffung der umfangreichen Literatur halfen mir in dankenswerter Weise die Bibliothekarinnen der Preußischen Landesanstalt Fräulein S. Schulze, Frau G. Richter und Fräulein E. Thumm, desgleichen bei den Zeichnungen und Photos Herr B. Grefrath, Lithograph an der Preußischen Landesanstalt.

Einleitung

Über die Wirkung giftiger Stoffe auf Pflanzen liegen bereits zahlreiche Versuche vor. Es hat sich dabei herausgestellt, daß die Widerstandsfähigkeit der einzelnen Arten außerordentlich verschieden ist. Auf Grund solcher Untersuchungen ist auch der Zusammenhang zwischen Giftwirkung und Permeabilität erörtert worden. Zur Erklärung sind zahlreiche, z. T. sehr scharfsinnige Theorien aufgestellt worden; indessen ist bisher noch keine imstande, alle Erscheinungen einwandfrei zu erklären.

Verfasser hat es sich nun zur Aufgabe gestellt, das Verhalten zweier bisher kaum näher untersuchter Algenarten gegenüber verschiedenen Giftstoffen zu untersuchen. Es handelt sich um einzellige Chlorophyceen der Ordnung Protococcales, nämlich: *Ankistrodesmus Braunii* (Nägeli) Brunnthaler und *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing, die in teichartigen Binnengewässern sehr häufig sind und sich chemischen Stoffen gegenüber als äußerst resistent erwiesen haben. Vergleichsweise wurden auch einige Versuche mit Fadenalgen, die zu den Chlorophyceen bzw. Konjugaten gehören, angestellt.

Auf ihre Giftwirkung hin wurden untersucht: NaCl, KCl, NaOH, HCl sowie verschiedene organische Säuren und Phenole.

I. Methodisches

Als Versuchsobjekt wurde die Protococcale *Ankistrodesmus Braunii* (Nägeli) Brunnthaler ausersehen, die als einziger Organismus in dem Schwimmbecken eines Waldbades im Hochsommer 1934 trotz Kiesfilterung und Chlorung in großen Mengen auftrat. Eine damals vom Verfasser ausgeführte Untersuchung ergab eine Algenmenge von ca. 150/ccm bei einer Fehlergrenze von ± 15%. Das vom praktischen Standpunkt unerwünschte massenhafte Auftreten und die verhältnismäßig große Chlorfestigkeit dieser Algen bestimmte mich, ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber verschiedenen chemischen Giften festzustellen, um dadurch Anhaltspunkte für ihre Bekämpfung zu gewinnen. Durch wiederholtes Überimpfen wurden schließlich artreine Kulturen gewonnen, die als Ausgangsmaterial für die folgenden Untersuchungen dienten. Um zu prüfen, ob eine ziemlich nah verwandte Art, nämlich *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing, dasselbe Verhalten chemischen Giften gegenüber zeigt, wurde als zweites Objekt artreines Material dieser Alge verwendet, das mir freundlicherweise von der Biologischen Station Lund (Schweden) zur Verfügung gestellt worden war. Auf absolute Reinkulturen habe ich bewußt verzichtet, da sie für meine Versuche nicht erforderlich waren. Denn die angewendeten Mineralsalz-Nährböden oder -lösungen boten die Gewähr dafür, daß eine nennenswerte Entwicklung etwa vorhandener Bakterien und eine damit verbundene Beeinflussung der Ergebnisse nicht zu befürchten war. Auch V. Czurda (1937, S. 1.) ist der Ansicht, daß dort, wo „trotz Anwesenheit anderer Organismen sehr hohe Vermehrungsintensitäten herbeigeführt werden können", Reinkulturen nicht unbedingt notwendig sind.

Um die zur Kultur geeignetste Lösung ausfindig zu machen, wurden folgende Nährlösungen angesetzt: nach R. Kolkwitz (1935, S. 4), Detmer, formuliert von Chalon (1901), Benecke nach v. Wettstein (1921) u. a., Beijerinck, Original (1890—93), ferner nach Jacobsen (1910), eine Abänderung der Beijerinck-Lösung, und Oehlmann in der Modifikation von Brunnthaler (1909)[1]. Zwecks Herstellung fester Nährböden wurden von jeder genannten Nährlösung Verdünnungen von ½, ¼, 1/5, 1/10 und 1/50 bereitet und mit Agar ver-

[1]) Genaue Angaben über diese Nährlösungen für Algen befinden sich in H. Kufferath (1930).

mischt, so daß dessen Konzentration stets 1% betrug. Nach 45 Minuten Sterilisation im Dampftopf wurden die Lösungen auf sterile Petrischalen so verteilt, daß eine etwa 2 mm dicke Schicht entstand. Jede Petrischale wurde nach dem Erstarren der Nähragarschicht mittels steriler Pipette mit 4 in Form eines Quadrates angeordneten Tropfen einer ganz schwach grünen Algensuspension in Aqua dest. beimpft. Als Standort wurde eine etwa 50 cm breite Fläche hinter dem hohen Oberlichtfenster eines photographischen Ateliers der Preußischen Landesanstalt gewählt, welches gegen Norden liegt, so daß die Algen vor direkten Sonnenstrahlen geschützt und keinen erheblichen Temperaturschwankungen ausgesetzt waren. Die Temperatur dieses Raumes betrug im Sommer wie im Winter etwa 18—20° C. Nach 7 Tagen war schon durch Augenschein zu erkennen, daß beide Arten auf dem Nährboden mit ½ verdünnter Jacobsen-Nährlösung die stärkste Vermehrung zeigten. Ferner behielten hier die Algen für die Dauer von etwa 4 Wochen ihr lebhaft grünes Aussehen, während sie auf allen anderen Nähragarplatten einen blaß grünen bis bräunlichen Farbton angenommen hatten.[1]) Bei sterilen Flüssigkeitskulturen in 100-ccm-Glaskolben mit gleichen Nährlösungen und Verdünnungen wie oben zeigten die Algen dasselbe Verhalten wie die Plattenkulturen. Zur weiteren Kultur von *Ankistrodesmus Braunii* (Näg.) Brunnth. und *Scenedesmus obliquus* (Turp.) Kütz. bediente ich mich daher ausschließlich der auf ½ verdünnten Jacobsen-Nährlösung.

Ihre Zusammensetzung ist folgende (s. H. Kufferath (1930), S. 56):

Wasser	100 g
NO_3NH_4	0,02 g
PO_4K_2H	0,02 g
SO_4Mg	0,01 g

Mitbestimmend für die Wahl gerade dieser Nährlösung, die sonst für Protococcales ungebräuchlich ist, war der Umstand, daß sie infolge ihrer Zusammensetzung aus nur 3 Salzen am wenigsten kompliziert ist. Es wird dadurch die Möglichkeit vermindert, daß die in den Nährlösungen vorkommenden Ionen die Wirkung der später untersuchten Säuren, Basen oder Salze in additivem oder antagonistischem Sinne erheblich beeinflussen können. Besonderer Wert wurde darauf gelegt, daß nach 3 bis 4 Wochen stets neue Agarplatten-Kulturen angesetzt und die Flüssigkeits-Kulturen nach der gleichen Zeit ebenfalls erneuert

[1]) Diese Erscheinung soll nach K. Boresch (1913) auf N-Mangel beruhen. R. Chodat (1913) hält die Braunfärbung für ein Zeichen der Disproportion zwischen N und C. Dieser Meinung schließt sich M. Oettli (1927) an.

wurden. Auf diese Weise stand für Untersuchungszwecke jederzeit frisches und lebenskräftiges Material zur Verfügung. Die pH-Messungen wurden teils kolorimetrisch mit dem Tüpfelverfahren und den Farbtafeln nach Dr. F. Tödt, teils elektrometrisch mit der Chinhydronelektrode, die bis pH = 8,5 (s. H. Jörgensen (1935)) anwendbar ist, vorgenommen. Die Tüpfelmethode hat gegenüber der elektrometrischen Bestimmung den Vorteil, daß für eine Messung 0,5 ccm Flüssigkeit genügen, während für letztere, die allerdings eine geringere Fehlergrenze hat, etwa 15 bis 20 ccm Flüssigkeit erforderlich sind.

Die für die Kulturen und späteren Versuche verwendeten Chemikalien waren reine Präparate pro analysi und wurden von den Firmen Merck, Schering oder Riedel & Grund bezogen.

Ob Organismen als lebend oder tot zu gelten haben, läßt sich bei den unbeweglichen Formen der einzelligen Algen besonders schwer feststellen, da sich der Übergang vom lebenden über das geschädigte zum toten Protoplasma unter den mannigfaltigsten äußeren Erscheinungen vollzieht, ohne daß jedoch mit Sicherheit der Augenblick des Aufhörens der Vitalität einwandfrei bestimmt werden könnte. Dagegen zeigen die höher organisierten Formen, z. B. die größeren Fadenalgen, deutlichere Merkmale, aus denen man Schädigungen oder den Tod feststellen kann.

Die in der Hauptsache angewendete Plasmolysemethode, die für Fadenalgen sowie höhere Pflanzen durchaus brauchbare Ergebnisse liefert, konnte bei den von mir untersuchten einzelligen Algen nicht zur fehlerlosen Beurteilung des Schädigungsgrades benutzt werden. Denn bei der Kleinheit der Objekte ist die einwandfreie Beobachtung der Plasmolysevorgänge kaum möglich, namentlich, wenn es darauf ankommt, den prozentualen Anteil toter Zellen zu bestimmen. Es mußte daher auf diese Methode verzichtet werden.

W. Pfeffer (1886) berichtet in seiner Arbeit „Über Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen", daß eine solche nicht nachzuweisen war für Nigrosin, Anilinblau, Eosin, Anilingrau, Kongorot, Marineblau und Methylblau. Seine Versuche mit *Spirogyra* ergaben, daß Eosin in den Zellen nicht gespeichert wird. Demgegenüber hat E. Küster (1911) mit Eosin bei *Allium cepa* und *Omphalodes linifolia* kräftige Vitalfärbung erzielt. Nach V. Grafe (1924) gehört Eosin zu den schwer eindringenden lipoidunlöslichen sauren Farbstoffen, die erst nach ein bis mehreren Tagen intramoïren. Durch eigene Versuche mit frischen Fäden von *Spirogyra orbicularis*, *Zygnema* spec., *Cladophora crispata*

und *Oedogonium* spec.[1]) habe ich festgestellt, daß nach einem Aufenthalt von 10 Minuten in einer 1%igen Eosinlösung keine Zelle der genannten Algen gefärbt worden war. Nachdem ich diese jedoch verschiedenen Salzlösungen ausgesetzt hatte — worüber an anderer Stelle berichtet wird (s. S. 93) — zeigte eine mehr oder weniger große Anzahl von Zellen eine mäßige bis starke Rotfärbung. Dieses Ergebnis läßt zwar gewisse Rückschlüsse auf den Grad der Schädigung zu, kann aber die Frage, ob lebend oder tot, eindeutig nicht beantworten. Es wurde eine Reihe ähnlicher Versuche auch mit den Protococcales *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus* angestellt. Aber auch hierbei war die geringe Größe dieser Formen erschwerend für die Beurteilung, da Farbunterschiede sehr schlecht zu erkennen waren, so daß diese Methode nicht zur Anwendung kam.

V. Růžička (1905) hat eine einfache Färbungsmethode angegeben, um lebendes vom abgestorbenen Protoplasma zu unterscheiden. Bringt man danach die Objekte in ein Gemisch 0,05%iger Lösung von Neutralrot und Methylenblau, so soll sich lebendes Plasma rot, abgestorbenes dagegen blau färben. Meine Versuche, auf diese Weise einen Unterschied festzustellen, führten indessen zu keinem positiven Ergebnis.

Wenn man einzellige Grünalgen irgendwelchen anomalen Einflüssen ausgesetzt hat, wird man an ihnen verschiedene Veränderungen mikroskopisch wahrnehmen können. Die geschädigten Algen werden sich häufig außer durch Farbwechsel der Chromatophoren und Desorganisationserscheinungen im Zellinnern auch durch gewisse äußere Formwandlungen von den normalen unterscheiden lassen. So traten bei *Ankistrodesmus Braunii* sehr häufig die manigfaltigsten Wuchsformen auf, während sich im Zytoplasma verschiedene kleinere und größere Hohlräume gebildet hatten. Jedoch werden Erscheinungen dieser oder ähnlicher Art nur in extremen Fällen, d. h. wenn es sich um schwerste Einwirkungen irreversibler Natur handelt, so charakteristisch sein, daß der Tod unverkennbar ist. Hierzu kann man nach J. Kessler (1937) die Chlorose der Algen rechnen, die zwar ein sekundäres, aber ziemlich sicheres Merkmal des eingetretenen Zelltodes bedeutet. Indessen ist zu berücksichtigen, daß sehr häufig selbst schwere Schädigungen nicht mit merklichen Farbveränderungen verbunden zu sein brauchen, und daß man bei der Beurteilung von Wachstumsanomalien auch sehr vorsichtig sein muß, da durch das Hinzufügen schädlicher Agenzien auch die übrigen Faktoren bis zu einem gewissen Grade verändert zu werden

[1]) Die Algen stammten aus einem Freilandbecken der Preußischen Landesanstalt in Berlin-Dahlem.

pflegen. Ist es nach dem vorher Gesagten in der Praxis nicht immer leicht, abgestorbene Zellen von lebenden zu unterscheiden, so muß andererseits der dauernde Verlust der Vermehrungsfähigkeit trotz ausreichender Ernährungsbedingungen — ein zeitweiliger ist ja für gewisse Dauerstadien eine bekannte Erscheinung — als das sicherste Kriterium für tote Zellen angesehen werden.

Bringt man die Zellen aus den Versuchslösungen wieder unter optimale Lebensbedingungen, so wird, wenn nur abgestorbene Zellen vorhanden sind, sich auch nach längerer Zeit kein Wachstum einstellen. Es wird andererseits aber um so lebhafter sein, je weniger die Zellen geschädigt worden sind. Hierbei ist der Vergleich mit einer Kontrollkultur eine selbstverständliche Notwendigkeit. Zwar beansprucht dieses Verfahren große Sorgfalt und einige Mühe und gestattet die Schlußfolgerung erst nach einiger Zeit, dafür ist es aber sehr zuverlässig und besonders für die einzelligen Algen gut anwendbar.

Zu diesem Zweck wurde in jedem Versuchskolben durch kräftiges Schütteln eine möglichst gleichmäßige Verteilung der Algen angestrebt und daraus eine Flüssigkeitsmenge von 10 ccm entnommen. Nach 3 Minuten dauerndem Zentrifugieren wurde die Versuchslösung abpipettiert und durch reine Nährlösung ersetzt, worauf wieder zentrifugiert wurde, bis nach wiederholtem Wechsel jegliche Spur der ursprünglichen Versuchslösung entfernt war. Wiederholte Untersuchungen ergaben, daß ein dreimaliger Wechsel in jedem Falle ausreichend war. Mit den letzten 4 Tropfen des Algen-Zentrifugates wurden sterile Nähragarplatten beimpft und an das helle Nordfenster, vor direkter Sonnenbestrahlung geschützt, hingestellt. Wie mehrere Versuche ergaben, genügte eine Wartezeit von längstens 14 Tagen, um das Ergebnis beurteilen zu können. Je nach dem Grad der Schädigung waren die Impfstellen auf den Agarplatten entweder schon makroskopisch als grüne erkennbar, oder es zeigten sich erst bei mikroskopischer Musterung mehr oder weniger kleinere oder größere Zellhaufen, die eine Vermehrung unzweideutig bewiesen. War nirgends eine Ergrünung festzustellen, so konnte mit der Abtötung sämtlicher Algen gerechnet werden.

Diese Methode entschied rein qualitativ die Frage, ob alle Algen abgestorben waren oder nicht. Um die Schädigung quantitativ zu bestimmen, mußte die Zählmethode angewendet werden. Dem zu prüfenden Kochkolben wurden dreimal mittels steriler Pipette 1 ccm Flüssigkeit entnommen, von der jedesmal 1 Tropfen = 0,01 ccm unter dem Mikroskop ausgezählt wurde. Die gefundenen Werte waren dabei im Höchstfalle um ± 10% vom Mittelwert abweichend. Es wurden

hierbei nur die noch rein grün aussehenden Formen als ungeschädigt gewertet. Durch Multiplikation erhält man die Menge pro 1 ccm, auf die meine späteren Zahlen immer Bezug nehmen. Es ist ersichtlich, daß diese Methode ungenau ist, weil sie von verschiedenen Zufälligkeiten abhängt und durch Multiplikation die Fehlergrenze noch vergrößert wird. Gleichwohl ist dieses Verfahren bei Beimpfung von Versuchskolben, wo es sich jedesmal um annähernd die gleichen Mengen Algen handeln soll, der einzig mögliche Weg, wenn man von der gewichtsanalytischen Bestimmung, die große Algenmengen erfordert, absieht.

Ein weiteres untrügliches Kennzeichen für die Vitalität der Algen ist der Assimilationsprozeß. Werden also Algen aus der Versuchslösung in reine Nährlösung, deren O_2-Gehalt bestimmt wurde, übergeimpft und längere Zeit guten Lichtverhältnissen ausgesetzt, dann muß sich im Falle der Vitalität eine Vermehrung des Sauerstoff-Gehaltes einstellen.

Die Sauerstoff-Bestimmung wurde nach L. W. Winkler (1888, 89) ausgeführt in der Modifizierung, die im chemischen Laboratorium der Preußischen Landesanstalt für Wasser-, Boden- und Lufthygiene in Berlin-Dahlem angewendet wird[1]).

Um die Brauchbarkeit dieser Methode für den vorliegenden Zweck zu ermitteln, wurde folgender Versuch angestellt:

Es wurde ein 2-Liter-Kolben mit $^1/_5$ verdünnter Jacobsen-Nährlösung sterilisiert und die Lösung durch vorsichtiges Abhebern auf 12 mit eingeschliffenen Glasstopfen versehene Flaschen verteilt. Ihr Fassungsvermögen war geeicht und lag bei den verschiedenen Flaschen zwischen 160 bis 180 ccm. Aus O_2-armen Flüssigkeiten, deren Algenmenge so eingestellt worden war, daß 1 ccm teils 1000, teils 10 000 Zellen von *Ankistrodesmus Braunii* bzw. *Scenedesmus obliquus* enthielt — diese Werte ergaben sich bei mehrmaligen Auszählungen — wurden je zwei Flaschen mit *Ankistrodesmus Braunii-* bzw. *Scenedesmus obliquus*-Zellen beimpft. Da es sich in jedem Falle nur um 1 ccm Impfflüssigkeit handelte, wurde dadurch keine das Ergebnis beeinflussende O_2-Menge übertragen. 4 Kontrollflaschen, von denen 2 sofort auf ihren O_2-Gehalt untersucht wurden, blieben unbeimpft. Nachdem die restlichen 10 Flaschen 7 Tage unter günstigen Lichtverhältnissen an einem Nordfenster gestanden hatten, wurde der Sauerstoffgehalt bei ihnen nach der oben genannten Methode bestimmt. Das Ergebnis ist in folgender Zahlentafel zusammengestellt:

---

[1]) Nach P. Sander (1935) werden $MnCl_2$ und NaOH in Form von Tabletten zugesetzt.

Zahlentafel 8

Art	Impf-menge	O_2-Gehalt in mg/l			
		am Anfang	nach 7 Tagen	mittlerer Wert	Zunahme
Ankistrodesmus Braunii	1 000	5,03	5,60		
	1 000	5,03	5,79	5,695	0,670
	10 000	5,03	7,13		
	10 000	5,03	7,22	7,175	2,150
Scenedesmus obliquus	1 000	5,03	5,85		
	1 000	5,03	5,98	5,915	0,890
	10 000	5,03	7,73		
	10 000	5,03	7,87	7,800	2,775
Kontrolle	—	5,03	5,00		
			5,05	5,025	—

Daß von den *Scenedesmus obliquus*-Zellen mehr Sauerstoff entwickelt wird, hängt mit der stärkeren Vermehrung während der Versuchsdauer zusammen, wie später gezeigt werden wird. Um diese Methode quantitativ auswerten zu können, müßte man streng genommen stets für gleichmäßige Impfmengen und vollkommene Übereinstimmung der anderen Faktoren wie Licht und Temperatur sorgen. Außerdem sind dazu Reinkulturen und bakterienfreie Nährmedien unbedingte Voraussetzung. In vorliegendem Fall kam es nur darauf an, die Lebensäußerung schon einer anfangs verhältnismäßig geringen Algenmenge — ca. 5 und 50 Zellen pro ccm — durch Feststellung der Sauerstoffzunahme ihrer Nährflüssigkeit infolge Assimilation einwandfrei zu bestimmen. Wenn diese Methode auch über den Grad der Schädigung keine genaue Auskunft geben kann, so ist es doch immerhin möglich, mit ihrer Hilfe über die Vitalität einzelliger Grünalgen in positivem oder negativem Sinne zu entscheiden.

II. Einfluß der Wasserstoffionen-Konzentration auf Vermehrung und Form der Algen

Es ist von vielen niederen Algen bekannt, daß sie innerhalb eines mehr oder weniger weiten pH-Bereiches leben können. Um *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus* auf ihr Verhalten zu prüfen, wurde folgender Versuch angestellt:

Es wurden 2 Serien steriler Agarplatten mit $^1/_5$ verdünnter Jacobsen-Nährlösung wie üblich hergestellt und vor dem Erkalten durch Zugabe einiger Tropfen verdünnter Salzsäure bzw. verdünnter Natronlauge auf verschiedene pH-Werte zwischen 3,3 und 8,8 eingestellt. Darauf wurden die Platten mit je 4 quadratisch angeordneten Tropfen, die ungefähr die gleiche Anzahl Zellen der betr. Art enthielten, beimpft. Die Aufschwemmung der zur Impfung dienenden Algen wurde in solcher Verdünnung angewandt, daß sie fast farblos war. Die Platten wurden an ein Fenster mit günstigen Lichtverhältnissen gestellt und der Grad der Ergrünung makroskopisch am 3., 7., 12. und 20. Tage beobachtet. Bei Beendigung des Versuches nach 20 Tagen wurde durch vorsichtiges Verflüssigen des festen Nährbodens der pH-Wert desselben nach dem Tüpfelverfahren mit Farbtafeln von Tödt ermittelt. Die einzelnen Untersuchungsergebnisse sind in Zahlentafel 9 zusammengestellt.

Man ersieht hieraus, daß die beiden Algenarten fast immer das gleiche Verhalten gegenüber den verschiedenen pH-Werten zeigen. Der pH-Bereich mit optimalem Wachstum befindet sich zwischen den Grenzen pH = 6,2 und pH = 8,2. Bei pH = 3,3 liegt scheinbar der untere Grenzwert, denn die geringe anfängliche Vermehrung, die durch ein kaum wahrnehmbares Ergrünen der Impfstellen angedeutet wird, geht nach einigen Tagen wieder zurück, und die Algen zeigen durch Chlorose an, daß sie absterben; spätere Versuche zeigten jedoch, daß die Algen während kürzerer Zeit ein noch niedrigeres pH ertragen können. Der obere Grenzwert ist bei pH = 8,8 noch nicht erreicht. Der pH-Wert am Versuchsende unterscheidet sich bei beiden Serien nicht wesentlich von dem Anfangswert mit Ausnahme der beiden Platten mit Anfangs-pH = 7,2, die nach 20 Tagen ein pH von 8,4 bzw. 8,7 hatten, was vielleicht mit der überaus starken Vermehrung der Algen in Zusammenhang steht. J. Keßler (1937) führt bei seinen Versuchen diese Erscheinung auf Abbauprodukte in den Kulturen zurück.

Zur Ermittlung der Zusammenhänge zwischen Menge der Algen, Intensität der Vermehrung und Änderung des pH-Wertes wurden ausschließlich die besser geeigneten Flüssigkeitskulturen benutzt. Um festzustellen, welche Gefäße und Flüssigkeitsmengen die zweckmäßigsten waren, wurden für Vorversuche 100-ccm-Kochkolben aus Jenaer Glas mit je 50, 40 oder 20 ccm Flüssigkeit beschickt. Als vorteilhafteste Zusammenstellung erwiesen sich die Kochkolben mit 50 ccm Flüssigkeitsmenge, da bei geringeren Mengen während einer längeren Versuchsdauer nicht unerhebliche Konzentrationsänderungen in den Lösungen auftreten können.

Zahlentafel 9

Anfangs-pH:	3,3		4,4		5,8		6,2		7,0		7,2		7,6		8,8	
Art	A. B.	Sc. o.	A. B.	Sc. o.	A. B.	Sc. o.	A. B.	Sc. o.	A. B.	Sc. o.	A. B.	Sc. o.	A. B.	Sc. o.	A. B.	Sc. o.
nach Tagen:	Farbe der Impfstellen:															
0	f. f.		f. f.		f. f.		f. f.		f. f.		f. f.		f. f.		f. f.	
3	f. f.	f. f.	s. schw.	s. schw.	schw.	schw.	schw.	m.	m.	m.	m.	m.	m.	m.	m.	m.
7	f. f.	f. f.	s. schw.	schw.	f. mst.	f. mst.	mst.	mst.	mst.	mst.	mst	mst.	schw.	schw.	schw.	schw.
12	f. f.	f. f.	m.	schw.	mst.	mst.	st.	st.	st.	st.	st.	st.	st.	st.	st.	st.
20	f. f.	f. f.	schw.	s. schw.	st.	st.	s. st.	s. st.	s. st.	s. st.	s. st.	s. st.	s. st.	s. st.	s. st.	s. st.
End-pH	3,3		4,1		5,4	5,6	6,2		7,4	7,2	8,4	8,7	8,0		8,2	

Zeichenerklärung:

A. B. = Ankistrodesmus Braunii
Sc. o. = Scenedesmus obliquus
f. f. = fast farblos
s. schw. = sehr schwach grün
schw. = schwach grün
m. = mäßig grün
f. mst. = fast mittelstark grün
mst. = mittelstark grün
st. = stark grün
s. st. = sehr stark grün

Da die früheren Agarkulturen gezeigt hatten, daß schwach alkalische Nährböden für meine Versuchsalgen die günstigsten waren, wurde dies in nachfolgenden Versuchen berücksichtigt (s. a. H. Molisch (1896), A. Artari (1906), O. Richter (1911) und E. G. Pringsheim (1924)).

Es wurde eine Anzahl Kochkolben mit je 50 ccm $^1/_5$ verdünnter Jacobsen-Nährlösung, deren pH durch Zugabe von 2 mg Na_2CO_3 je Kolben 7,3 betrug, sterilisiert und davon 18 Kolben mit je ca. 500 000 Zellen von *Ankistrodesmus Braunii* beimpft. Zum Vergleich blieben einige Kolben unbeimpft. Die Vermehrung der Algen wurde durch Auszählen von je 3 Tropfen bei 2 Kolben nach 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20 und 30 Tagen festgestellt und gleichzeitig das pH der beimpften und unbeimpften Kolben elektrometrisch gemessen.

Eine in allen Einzelheiten übereinstimmende Versuchsanordnung wurde zur selben Zeit für *Scenedesmus obliquus* getroffen.

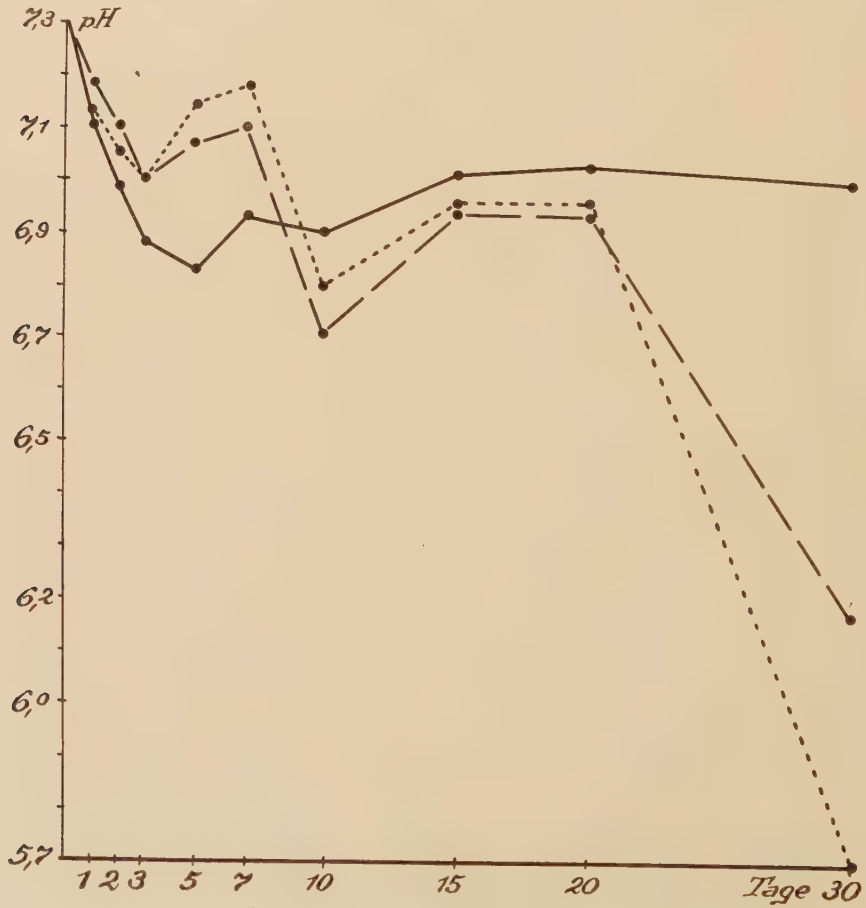
In der Zahlentafel 10 und der Kurve 5 sind die Mengen der Algen sowie die pH-Werte an den einzelnen Untersuchungstagen angegeben und graphisch dargestellt worden. Es ist dabei zu bemerken, daß die angegebenen Zahlen das arithmetische Mittel von zwei Einzelwerten sind.

Aus der Darstellung ist ersichtlich, daß eine Beeinflussung des pH der Nährlösung durch die Algenzunahme bei meinen Versuchen bis zum 20. Versuchstage nur in sehr geringem Maße anzunehmen ist, da bis zu dieser Zeit alle 3 Kurven gleichsinnig und dicht beieinander verlaufen. Erst dann macht sich eine starke Zunahme der Azidität in den beimpften Kolben bemerkbar, die unzweifelhaft auf den Verbrauch der Nährsubstanzen und die dadurch bedingten chemischen Umsetzungen zurückzuführen ist. M. Roberg (1930) weist darauf hin, daß eine der Ursachen in der Diffusion von in die Nährlösung gelangten Assimilationsprodukten der Algenzellen zu suchen ist.

Bei der mikroskopischen Auszählung zwecks Mengenbestimmung hatte Verfasser des öfteren beobachtet, daß bei längerer Versuchsdauer beide Algenarten Formveränderungen zeigten. Diese Erscheinung war besonders bei *Ankistrodesmus Braunii* auffällig, deren spindelförmige Zellen sich bald zur Teilung anschickten, wobei kleine elliptische Formen entstanden, die sich schließlich der Kugelform näherten. Da auch die Zellen von *Scenedesmus obliquus* mit der Zeit rundlich wurden, war als einziges Unterscheidungsmerkmal lediglich das Vorhandensein

Zahlentafel 10

nach Tagen	1	2	3	5	7	10	15	20	30
Ank. Br. Mg./ccm	12 000	26 000	53 000	168 000	320 000	592 000	1 060 000	1 350 000	2 320 000
„ „ pH	7,18	7,09	7,00	7,07	7,10	6,70	6,92	6,93	6,17
Sc. obl. Mg./ccm	19 000	37 000	49 000	150 000	350 000	625 000	1 710 000	2 160 000	3 900 000
„ „ pH	7,13	7,04	7,00	7,14	7,18	6,80	6,94	6,95	5,70
Kontrollversuch: pH (unbeimpft)	7,10	6,98	6,88	6,84	6,93	6,90	7,00	7,02	7,00.



Kurve 5. pH-Werte für Ankistr. Br. und Scened. obl. nach 1—30 Tagen.
Zeichenerklärung: — — Ankistr. Br. ---- Scened. obl. —— Kontrollversuch.

bzw. Fehlen des Pyrenoids gegeben (s. Abb. 19). Dieses sogenannte Dactylococcus-Stadium ist in der Literatur häufig beschrieben worden, so daß sich ein näheres Eingehen darauf erübrigt (s. R. Chodat und O. Malinesco (1893), R. Chodat (1895, 97, 1902, 09, 13, 26), W. Vischer (1920), E. Großmann (1921), M. Oettli (1927); weitere Literaturangaben bei N. Wille (1919)).

Abb. 19. Übergang der Normalform in das Dactylococcus-Stadium: a—f: Ankistrodesmus Braunii. Bei b: Teilungsstadium. g—i: Scenedesmus obliquus. g und h: Kolonien. P = Pyrenoid. (Vergr.: 1500 : 1.)

Um zu entscheiden, inwieweit das Alter der Nährlösung, wie meist angenommen, oder das pH der Kulturen das mehr oder weniger starke Auftreten solcher Dactylococcus-ähnlichen Formen hervorzurufen vermag, wurde eine Reihe von Versuchen angestellt. Da anzunehmen war, daß sich beide Arten im wesentlichen gleich verhalten, habe ich als Versuchsalge nur *Ankistrodesmus Braunii* benutzt, die für die Unterscheidung der Stadien die geeignetere Form besitzt.

Zwei Serien von Kochkolben mit je 50 ccm $^1/_5$ verdünnter Jacobsen-Nährlösung wurden sterilisiert und je 2 Kolben wie bei den früheren Plattenkulturen (s. S. 77) auf pH-Werte von 3,0 bis 9,0 eingestellt. Das pH wurde elektrometrisch gemessen. Während die eine Serie unbeimpft blieb, wurde jeder Kolben der anderen mit annähernd der gleichen Menge normaler Zellen von *Ankistrodesmus Braunii* beimpft. Eine anschließende Auszählung in der früher erwähnten Weise ergab die Menge in 1 ccm Lösung. Sie betrug im Durchschnitt 280 000/ccm. Nach 7, 14 und 28 Tagen erfolgte die pH-Messung und nach 14 und 28 Tagen die Mengenbestimmung durch Auszählen. Dabei wurde zwischen den normalen länglichen und den veränderten kugeligen Dactylococcus-Formen sorgfältig unterschieden. Das Resultat ist aus Zahlentafel 11 zu entnehmen:

Zahlentafel 11

Anfangs-pH:	Nach 14 Tagen			Nach 28 Tagen			End-pH:
	Gesamtzahl	normal	kugelig	Gesamtzahl	normal	kugelig	
	in % der Anfangsmenge			in % der Anfangsmenge			
4,0	84	44,5	39,5	650	110	540	3,45
5,0	190	124	66	1080	150	930	3,6
6,0	280	240	40	1280	256	1024	3,8
7,0	405	385	20	1620	470	1150	3,85
8,0	790	760	30	7100	2000	5100	7,5
9,0	373	317	56	4380	193	4187	8,2

Betreffs der Umbildung zum Dactylococcus-Stadium ist nach der Zahlentafel zu folgern, daß nach 14- und 28-tägiger Versuchsdauer sowohl mit steigender Azidität als auch zunehmender Alkalität der Prozentsatz an rundlichen Zellen gegenüber der Normalform zunimmt. Dabei scheint das Anfangs-pH der Lösung mitbestimmend zu sein. Denn in den beiden Kolben, die auf pH = 7 bzw. pH = 8 eingestellt worden waren, blieb der Prozentsatz an Dactylococcus-Formen bis zum 28. Tage am geringsten im Vergleich zu den anderen, obwohl das pH im ersten Fall nach dieser Zeit 3,85, im letzteren dagegen 7,5 betrug. Insgesamt ist überall festzustellen, daß mit der Länge der Versuchsdauer die Veränderung der normalen Zellform zunimmt. Diese Erscheinung ist daher als Anpassungsform aufzufassen, zu der die einzelligen Grünalgen be-

fähigt sind, wenn sie sich unter dem Einfluß ungünstiger Umweltsbedingungen befinden. Dies gilt jedoch nur für einen begrenzten Bereich. Denn der Befund, daß in den Kolben mit pH = 3,0 keine Dactylococcus-Stadien auftraten, läßt darauf schließen, daß die Zellen auf diese stark saure Lösung nicht mehr im Sinne einer Anpassung reagieren können.

Die Dactylococcus-Form der Einzeller gilt allgemein als unveränderlich. Ob diese Angabe auch auf meine Versuchsalge *Ankistrodesmus Braunii* zutrifft, suchte ich in folgender Weise festzustellen.

Etwa 4 Wochen alte artreine Flüssigkeitskulturen der genannten Alge, die vollkommen in das Dactylococcus-Stadium übergegangen war, wie mehrfache mikroskopische Kontrollen ergaben, wurden nach Zentrifugieren und Abpipettieren der alten Lösung in 5 Kolben mit frisch

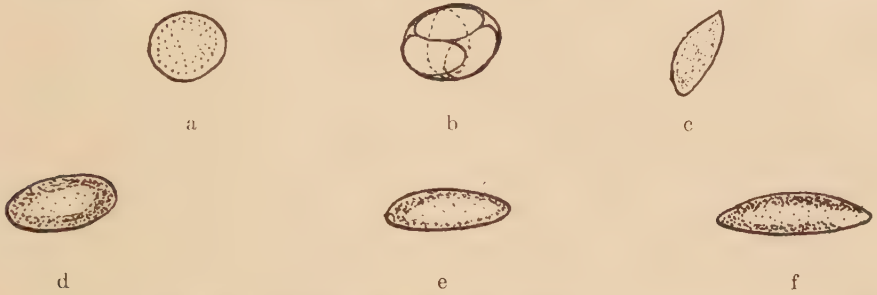


Abb. 20. a–f: Verschiedene Übergangsformen einer Ankistrodesmus Braunii-Zelle bei der Rückbildung aus dem Dactylococcus-Stadium zur fast normalen Gestalt. b: Zelle in Teilung. (Vergr.: 1500 : 1).

bereiteter $^1/_5$ verdünnter Jacobsen-Nährlösung übertragen. Das pH der 5 Kolben betrug 4,0; 5,5; 6,5; 7,0 und 8,0. Nachdem die Algen 30 Tage an einem hellen Fenster gestanden hatten, wurden sie mikroskopisch untersucht. Das pH hatte sich inzwischen auf 3,2; 3,6; 4,2; 5,1 und 7,8 eingestellt, was auch mit früheren Versuchen ungefähr übereinstimmt. Bei der Durchsicht der einzelnen Kulturen stellte sich heraus, daß in den Kolben mit den größeren Wasserstoffionen-Konzentrationen, also bei pH = 3,2 bis 4,2, sich zahlreiche Übergangsstadien zwischen Dactylococcus- und Normalform gebildet hatten, die in der Kultur mit pH = 5,1 weit seltener und in derjenigen mit pH = 7,8 nicht vorhanden waren. Allerdings wurde die ursprüngliche Spindelform in keinem Falle beobachtet. Die der Normalform am nächsten kommenden fast elliptischen Zellen machten etwa 5 bis 10% der Gesamtmenge aus (s. Abb. 20). Es gewinnt daher die Annahme an Wahrscheinlichkeit, daß einzelne Algen nach erfolgter Anpassung und Gewöhnung an das stark saure Medium durch einen nicht erkennbaren stimulierenden Einfluß zu neuem

Wachstum im Sinne einer Annäherung an ihre ursprüngliche Form veranlaßt werden.

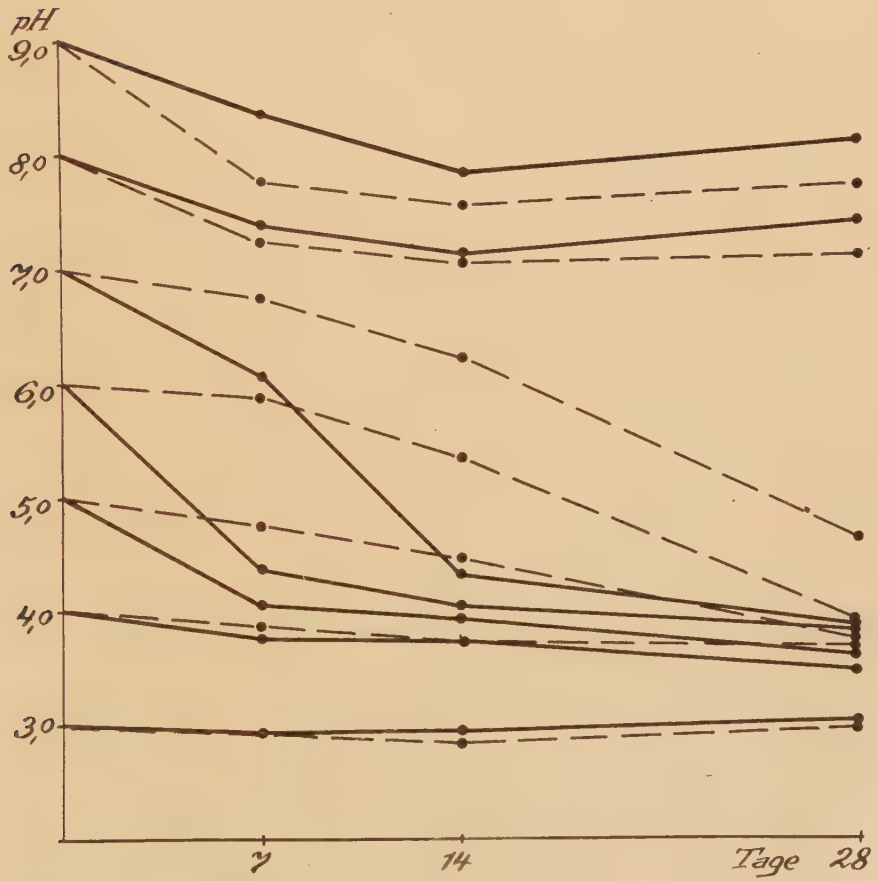
Aus den auf Seite 82 beschriebenen Versuchen ergibt sich gleichzeitig, wenn man nur die Gesamtvermehrung ins Auge faßt, daß bei Verwendung flüssiger Nährlösung das optimale Wachstum in Übereinstimmung mit früheren Beobachtungen zwischen pH = 7,0 und 8,0 liegt, da bei dem Kolben mit Anfangs-pH = 8,0 bis zum 28. Tage, wo sich das pH auf 7,5 eingestellt hatte, eine 71-fache Vermehrung eingetreten war. In dem Kolben mit Anfangs-pH = 3,0 wurde eine zunehmende Verminderung der Algenmenge festgestellt, woraus zu schließen ist, daß diese Wasserstoffionen-Konzentration ein langsames Absterben der Algen verursacht. Daß in dem Kolben mit Anfangs-pH = 4,0 nach vorübergehender Abnahme wieder eine Zunahme der Algen stattfand, deutet vielleicht auf eine Anpassung nach überwundener Schädigung hin.

Die Zahlentafel 12 und graphische Darstellung mit den pH-Kurven (s. Kurve 6) zeigen sowohl bei beimpften wie unbeimpften Nährlösungen ein verschieden starkes aber stetiges Absinken des pH-Wertes im sauren Bereich. Die Ursachen sind wahrscheinlich chemische Umsetzungen wie Reduktion des NO_3 zu NO_2 und Bildung freier Säure infolge stärkeren Verbrauchs der NH_4-Gruppe in der Nährlösung (s. A. Artari (1906)). Es ist auch bekannt, daß Phosphate in alkalischer Lösung leicht Komplexverbindungen bilden, wodurch eine Ansäuerung des Mediums stattfinden kann (s. J. Talts (1932)). In den Kolben mit Anfangs-pH = 8,0 und 9,0 hatte nach anfänglichem pH-Abfall gegen Ende ein Wiederanstieg stattgefunden, wobei jedoch im Gegensatz zu den Versuchen mit Agar-Platten-Kulturen der Anfangswert nicht erreicht wurde. Diese Erscheinung ist wahrscheinlich auch die Folge chemischer Umsetzungen, die sich in alkalischer Lösung in anderer Weise äußern als in saurer.

Die bei den bisherigen Versuchen gefundene Tatsache, daß *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus* selbst in Kulturlösungen mit pH = 3,2 und pH = 8,8 zu vegetieren vermögen — womit noch nicht die Lebensgrenzen erreicht sind, wenn auch die Vermehrung aufhört oder eingeschränkt wird — ist nicht ohne Beispiel bei anderen Autoren. So fanden F. B. Wann und E. F. Hopkins (1927) bei *Chlorella* spec. als Wachstumsgrenze in gepufferter Nährlösung die Werte pH = 3,4 bzw. pH = 8,4. H. R. Bode (1926) gibt an, daß das Kulturwasser manchmal ohne merklichen Schaden für *Spirogyra* pH = 11,0 erreichen kann. Auch bei Zellen höherer Pflanzen sind zuweilen äußerst niedrige bzw. sehr hohe pH-Werte als Lebensgrenzen beobachtet worden. So trat nach Angaben von A. Kaczmarek (1929) der Tod bei Zellen von *Rhoeo discolor* erst bei pH = 2,77 und pH = 10,0 ein.

Zahlentafel 12

Mit Algen:	beimpft	unbeimpft	beimpft	unbeimpft	beimpft	unbeimpft	beimpft	unbeimpft	beimpft	unbeimpft	beimpft	unbeimpft	beimpft	unbeimpft
pH-Anfangswert	3,0		4,0		5,0		6,0		7,0		8,0		9,0	
pH nach 7 Tg.	2,9	2,9	3,8	3,9	4,1	4,8	4,4	5,9	6,1	6,8	7,4	7,25	8,4	7,8
pH nach 14 Tg.	2,9	2,8	3,7	3,7	3,9	4,4	4,0	5,3	4,3	6,3	7,2	7,1	7,9	7,6
pH nach 28 Tg.	3,0	2,95	3,45	3,65	3,6	3,7	3,8	3,9	3,85	4,6	7,5	7,2	8,2	7,8



Kurve 6. Änderung der pH-Werte in Ankistrodesmus Braunii-Kulturen.
Zeichenerklärung: ——— beimpfte Lösungen. – – – unbeimpfte Lösungen.

Die angeführten Ergebnisse lassen bei einem Vergleich mit dem Vorkommen verschiedener Algen an natürlichen Standorten erkennen, daß eine Anpassung an ähnlich weite pH-Bereiche nirgends gefunden wurde. Dies ist erklärlich, wenn man berücksichtigt, daß derartig optimale Lichtverhältnisse und Ernährungsbedingungen, wie man sie den Algen in Laboratorien bieten kann, von ihnen in der Natur niemals angetroffen werden, da dort ihre Umwelt häufig durch chemische oder physikalische Prozesse bedingten Schwankungen unterworfen ist.

E. Wehrle (1927) hat das natürliche Vorkommen von *Ankistrodesmus falcatus* in den Grenzen pH = 4,8 bis 8,0 und von *Scenedesmus obliquus* bei pH = 5,3 bis 8,0 gefunden.

Zu den Arten, die sich einem ähnlich weiten pH-Bereich anpassen können, gehören nach diesem Autor:

Art	pH-Bereich
Oocystis solitaria	3,2—7,9
Euglena viridis	4,0—7,9
Scenedesmus quadricauda	4,2—8,0
Scenedesmus bijugatus	4,5—8,0
Cosmarium humile	4,5—8,2
Closterium Leibleinii	4,5—8,2

Demgegenüber stehen die Arten, die nur in einem sehr engen pH-Bereich angetroffen wurden. Es seien genannt:

Art	pH-Bereich
Cosmarium obliquum	3,8—4,1
Arthrodesmus triangularis	4,9—5,1
Cosmarium Turpinii	7,5—7,9
Geminella minor	7,6—7,8

Von den tropischen Desmidiaceen seien folgende Beispiele, die durch weite bzw. enge pH-Lebensgrenzen charakterisiert sind, angeführt (zitiert nach W. Krieger (1932)):

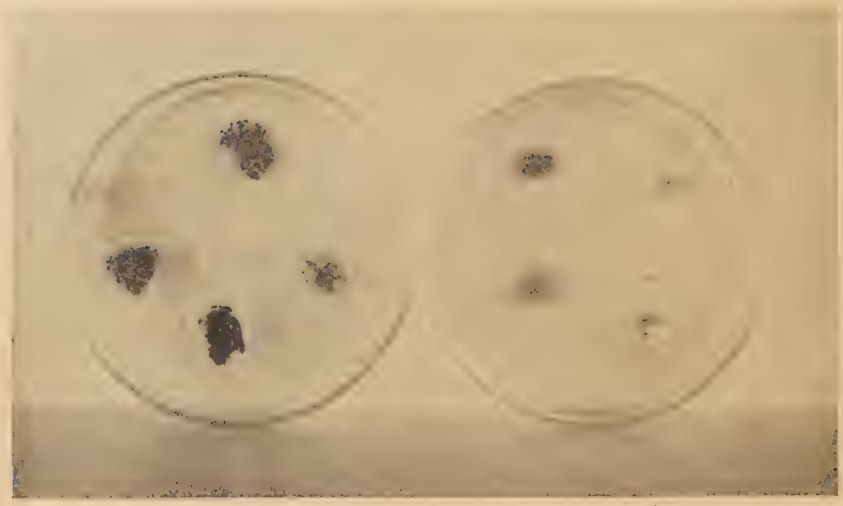
Art	pH-Bereich
Cosmarium moniliforme	4,0—8,0
Euastrum subincisum f.	4,0—8,1
Gymnozyga moniliformis	4,0—8,4
Cosmarium granatum	4,2—8,4
Closterium acutum	4,3—7,9
Closterium cornu v. javanicum	4,5—8,3
Staurastrum punctatum v. ellipticum	5,5—9,3
Cosmarium bireme f. punctata	6,0—9,4
Penium minutissimum	3,8—4,1
Euastrum Kolkwitzii	4,1—4,3
Cosmarium striolatum v. Nordstedtii	4,1—4,3
Cosmarium parvulum	4,2—4,4
Cosmarium divergens	8,4—8,7
Cosmarium tithophoroides	8,5—8,8
Staurastrum singkarakense	8,5—8,8
Onychonema laeve	8,6—8,9

Ob es sich bei dem Vorkommen der Arten mit engen pH-Grenzen um solche handelt, die nicht imstande sind, sich den gegebenen Verhältnissen anzupassen, oder aber eine geringe Verbreitung ihr seltenes Auffinden bedingt hat, möge dahingestellt bleiben.

Bei den folgenden Versuchen mit HCl bzw. NaOH handelte es sich um die Feststellung, wo die pH-Grenzen für *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus* liegen, bei denen das Absterben innerhalb kurzer Zeit erfolgt.

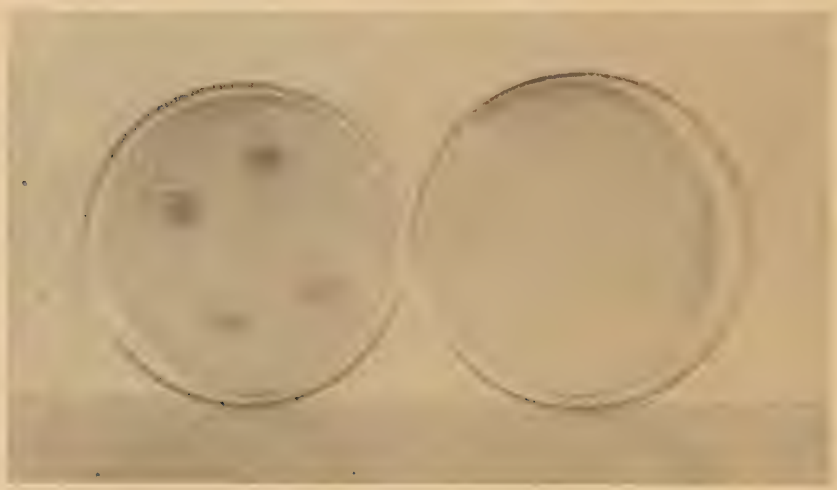
Um den Einfluß der Luftkohlensäure, die bei den gewöhnlich nur mit Wattestopfen verschlossenen Kolben mit stark alkalischen Lösungen als Ursache des pH-Abfalls anzusehen ist, auszuschalten, wurde folgende Versuchsanordnung getroffen:

Fünf 300-ccm-Erlenmeyerkolben wurden mit je 40 ccm Jacobsen-Nährlösung und der Reihe nach mit 15, 30, 45, 60, 90 ccm n NaOH beschickt und jedes Gefäß bis 200 ccm mit Aqua dest. aufgefüllt. Davon wurden je 100 ccm auf weitere 5 Erlenmeyerkolben verteilt, so daß 2 Serien mit qualitativ und quantitativ gleichen Lösungen entstanden waren. Nach Beimpfung jeder Serie — je Kolben ca. 14 Millionen *Ankistrodesmus Braunii*- bzw. *Scenedesmus obliquus*-Zellen — wurden die Kolben mit durchbohrten Gummistopfen versehen, durch die mittels Glasröhren und kurzen Schläuchen eine Verbindung aller Gefäße möglich war. Danach wurde ein durch einen Natronkalk-Turm von CO_2 befreiter Luftstrom durch die angeschlossenen Kolben geleitet, bis die über den Flüssigkeiten stehende Luft verdrängt worden war. Alle Kolben hatten am Grunde einen verschließbaren Ansatz, durch welchen nach kräftigem Schütteln die zur Rückimpfung und pH-Messung notwendige Flüssigkeitsmenge = 25 ccm nach 1, 2 und 5 Tagen entnommen wurde. Davon dienten 15 ccm zur elektrometrischen pH-Bestimmung. Zu diesem Zweck wurde die genannte Flüssigkeitsmenge mit einer gesättigten Chinhydronlösung in Iso-Amylalkohol überschichtet, wobei sich die für die Messung notwendige gesättigte wässerige Chinhydronlösung in der zu messenden Flüssigkeit bildete. Der Rest wurde zentrifugiert und nach dreimaligem Wechsel mit normaler Nährlösung auf Nähr-Agarplatten übergeimpft, um die Wachstumsfähigkeit festzustellen. Nach 14 Tagen wurden die Impfstellen einer sorgfältigen mikroskopischen Durchsicht unterzogen, wenn nicht schon makroskopisch die eingetretene Vermehrung durch Ergrünen der betr. Impfstelle deutlich erkennbar war. Erst wenn keinerlei Vermehrung zu entdecken war, galt die entsprechende Konzentration als Grenz- oder Todeswert für die betreffende Algenart (siehe Photographien Abb. 21 u. 21 a).



a b

Abb. 21. Vermehrung der Rückimpfungen von Ankistrodesmus Braunii-Zellen aus verschiedenen Lösungen nach 14 Tagen auf Nähragarplatten.
a: Die Algen waren 1 Tag in NaOH-Lösung (+ Nährlösung) mit pH = 12,4
b: Die Algen waren 1 Tag in NaOH-Lösung (+ Nährlösung) mit pH = 12,8.



c d

Abb. 21a. Vermehrung der Rückimpfungen von Ankistrodesmus Braunii-Zellen aus verschiedenen Lösungen nach 14 Tagen auf Nähragarplatten.
c: Die Algen waren 1 Tag in NaOH-Lösung (+ Nährlösung) mit pH = 13,1
d: Die Algen waren 1 Tag in NaOH-Lösung (+ Nährlösung) mit pH = 13,4.
Auf Platte d: Keine Entwicklung!

Entsprechende Versuche wurden in mit HCl angesäuerten Nährlösungen vorgenommen, wobei zur pH-Messung gleichfalls die Chinhydronelektrode benutzt wurde. Ferner genügte in diesem Fall der Verschluß der Kolben mittels Gummistopfen, da in stark sauren Lösungen erfahrungsgemäß keine wesentlichen pH-Schwankungen aufzutreten pflegen. Die gleichzeitig mit der oben genannten Versuchsreihe angesetzten 5 Erlenmeyerkolben enthielten der Reihe nach 10, 15, 25, 50, 75 ccm n HCl. Die Kontrolle der Vitalität wurde in derselben Weise wie oben erwähnt vorgenommen.

Das Ergebnis ist aus Zahlentafel 6 zu ersehen.

Zahlentafel 13

Obere und untere Lebensgrenzen für *Ankistrodesmus Braunii*:

Nach Tagen	noch lebende Zellen bei pH:	Lösung enthält HCl in mol:	keine lebenden Zellen bei pH:	Lösung enthält HCl in mol:
1	0,87	0,125	0,58	0,250
2	0,87	0,125	0,58	0,250
5	0,90[1])	0,120	0,61[1])	0,225

Nach Tagen	noch lebende Zellen bei pH:	Lösung enthält NaOH in mol:	keine lebenden Zellen bei pH:	Lösung enthält NaOH in mol:
1	13,1	0,225	13,4	0,30
2	12,8	0,150	13,1	0,225
5	12,4	0,075	12,8	0,150

Obere und untere Lebensgrenzen für *Scenedesmus obliquus*:

Nach Tagen	noch lebende Zellen bei pH:	Lösung enthält HCl in mol:	keine lebenden Zellen bei pH:	Lösung enthält HCl in mol:
1	0,58	0,250	0,50	0,375
2	0,87	0,125	0,58	0,250
5	0,90[1])	0,120	0,61[1])	0,225

nach Tagen	noch lebende Zellen bei pH:	Lösung enthält NaOH in mol:	keine lebenden Zellen bei pH:	Lösung enthält NaOH in mol:
1	13,4	0,30	13,7	0,450
2	13,1	0,225	13,4	0,30
5	12,8	0,150	13,1	0,225

[1]) Mittelwert zwischen dem Anfangs- und End-pH-Wert der Lösung.

Durch Versuche, die in der gleichen Weise wie vorstehend nur mit geringeren Mengen NaOH angestellt worden waren, konnte mit Hilfe der mikroskopischen Auszählung festgestellt werden, daß in Lösungen mit pH = 10,5 bei *Ankistrodesmus Braunii* und mit pH = 11,2 bei *Scenedesmus obliquus* noch Vermehrung innerhalb von 5 Tagen stattgefunden hatte. Diese betrug für erstere im Mittel etwa 30%, für letztere sogar etwa 40%. In Lösungen mit pH = 10,9 bzw. pH = 11,6 konnte bei beiden Arten keine Vermehrung mehr beobachtet werden.

Da das Resultat meiner Versuche sehr überraschend war, überzeugte ich mich durch Wiederholungen, daß es sich nicht um Zufallsergebnisse gehandelt hatte. Daß derartig hohe Wasserstoffionen- bzw. Hydroxylionenkonzentrationen für kürzere Zeit von beiden Algenarten ertragen werden können, zeugt von ihrer großen Widerstandsfähigkeit, wobei *Scenedesmus obliquus* noch *Ankistrodesmus Braunii* übertrifft. Ferner läßt sich dieses Ergebnis auf die bekannte Tatsache zurückführen, daß stark dissoziierte Mineralsäuren und Basen im Gegensatz zu schwach dissoziierten sehr schwer in lebende Pflanzenzellen eindringen, da hauptsächlich ihr undissoziierter Anteil wirksam ist (vgl. W. J. V. Osterhout (1925), W. Brenner (1918, 20), R. Höber (1927), M. Brooks-Moldenhauer (1923), R. Collander (1925), W. W. Lepeschkin (1937)). Demgemäß ist die Wahrscheinlichkeit der Ansicht W. Ruhlands (1912), daß die hochdissoziierten freien anorganischen Säuren ebenso schnell wie schwache organische Säuren aufgenommen werden, wenigstens für *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus* in Frage gestellt, und die ablehnende Haltung von K. Pirschle und H. Mengdehl (1931) zur Permeation der Säuren- bzw. Basenmoleküle bedeutungslos. Wenn somit ein Durchdringen der intakten Zellwand von H- oder OH-Ionen nicht erfolgt, so sind doch bei längerer Einwirkung starker Konzentrationen Schädigungen derselben anzunehmen, worauf es durch Säuren zu irreversiblen Eiweißverbindungen, durch Laugen außerdem zur Destruktion des Protoplasmas infolge Verseifung der Lipoide kommen kann (vgl. H. Reichel und K. Spiro (1927), R. Keller (1928), L. V. Heilbrunn (1928)). P. Klemm (1895) und ebenso H. Schindler (1938) beobachteten ebenfalls, daß durch Säuren Granulationen, durch basische Stoffe Vakuolisierungen hervorgerufen wurden. Von durch Säuren hervorgerufenen Granulationserscheinungen berichtet auch H. Balbach (1938). Ähnliche Erscheinungen konnte auch ich bei den Algenzellen nach Behandlung mit HCl und NaOH feststellen (s. Abb. 22 u. 22a). E. Harvey (1913) folgert aus seinen Versuchen mit *Spirogyra*, daß starke Alkalien erst nach Schädigung der Zellwand die Grenzschichten

passieren. Nach W. W. Lepeschkin (1927) wirken Säuren und Laugen auf das Dispersionsmittel des Protoplasmas direkt ein.

Ähnliche Versuchslösungen mit derart extremen pH-Werten, die, wie meine Versuche zeigten, von einigen Algenzellen der behandelten Gattungen während kürzerer Zeit ertragen wurden, sind in der Literatur bisher nicht genannt worden. Diese Tatsache ist ein erneuter Beweis für die große Anpassungs- und Widerstandsfähigkeit der genannten

Abb. 22. Granulationserscheinungen nach 5tägiger Einwirkung von HCl + Nährlösung bei pH = 0.62.
a: Ankistrodesmus Braunii. b: Scenedesmus obliquus.
(Vergr. 1500 : 1).

Abb. 22a. Vakuolenbildung nach 5tägiger Einwirkung von NaOH + Nährlösung bei pH = 12,8 für Ankistrodesmus Braunii und pH = 13,1 für Scenedesmus obliquus.
a: Ankistrodesmus Braunii. b: Scenedesmus obliquus.
(Vergr. 1500 : 1).

Protococcales, die im wesentlichen auch dadurch bedingt sein dürften, daß es sich bei diesen Zellen um ein kompaktes Plasma ohne Zellsaftvakuolen handelt. Daher ist ihre Resistenz ähnlich der von Dauersporen, die freilich meist noch ärmer an Wasser sein dürften.

III. Untersuchungen über Giftwirkungen

Über die Frage nach der Resistenz der verschiedenen Pflanzengruppen gegenüber Alkali-, Erdalkali- und Schwermetallsalzen liegen bereits zahlreiche Untersuchungen vor. Es sind dabei als Versuchsobjekte Vertreter fast jeder Klasse verwendet worden. Die sog. F. Hofmeister'sche (1888) oder lyotrope Ionenreihe, die nach fallender Giftigkeit angeordnet für die Anionen:

$SCN \rangle J \rangle Br \rangle NO_3 \rangle$ Acetat $\rangle Cl \rangle$ Tartrat $\rangle$ Citrat $\rangle SO_4$

und die Kationen:

$Cs \rangle Rb \rangle K \rangle Na \rangle Li \rangle Mg \rangle Ba \rangle Sr \rangle Ca$

Zahlentafel 14

Art	Salz	Menge in mol	Zeit	Wirkung	Autor
Phormidium	$NaNO_3$	0,33	8 Tg.	Gr. K.	K. Boresch (1913)
Phormidium	„	0,25	17 Tg.	Gr. K.	K. Boresch (1913)
Chlamydomonas spec.	„	0,25		Gr. K.	K. Boresch (1913)
Kleinere Spirogyren	„	0,118		o	O. Loew (1893)
Gonium pectorale Gonium tetras Chlorella spec.	$NaClO_3$	0,0094 bis 0,282	3 Mon.	o	C. Stapp u. W. Bucksteeg (1937)
Spirogyra neglecta	KNO_3	0,1	4 Tg.	30% ††	W.W. Lepeschkin (1927)
Spirogyra	„	0,06		†	R. H. True (1898)
Kleinere Spirogyren	„	0,1		o	O. Loew (1893)
Phormidium	„	0,0133	6 Tg.	Gr. K.	K. Boresch (1913)
Phormidium	„	0,0143	17 Tg.	Gr. K.	K Boresch (1913)
Chlamydomonas spec.	„	0,025		Gr. K.	K. Boresch (1913)
Scenedesmus obl.	„	0,05		†	H. Andreesen (1913)
Scenedesmus obl.	„	1,0		††	H. Andreesen (1913)
Spirogyren	$KClO_3$	0,00082	nach mehr. Tg.	††	O. Loew (1893); Th. Bokorny (1905)
Spirogyra	$KMnO_4$	$6{,}34 \cdot 10^{-3}$	1 Std.	††	Th Bokorny (1897)
Spirogyra	„	$1{,}27 \cdot 10^{-4}$	6 Std.	††	Th. Bokorny (1897)
Cladophora	„	$6{,}34 \cdot 10^{-5}$		o	Th. Bokorny (1897)
Phormidium	$Mg(NO_3)_2$	0,2	7 Tg.	Gr. K.	K. Boresch (1913)
Chlamydomonas spec.	„	0,25		Gr. K.	K. Boresch (1913)
Kleinere Spirogyren	„	0,039	6—12 Std.	††	O. Loew (1892, 93)
Kleinere Spirogyren	„	0,0039	4 Tg.	††	O. Loew (1892)
Spirogyren	$MgSO_4$	0,0041	4—5 Tg.	††	O. Loew (1892, 93)
Stichococcus bacillaris	„	0,61		Gr. K.	A. Artari (1906)
Chlorella communis	„	1,1		Gr. K.	A. Artari (1906)
Phormidium	$Sr(NO_3)_2$	0,008	21 Tg.	Gr. K.	K. Boresch (1913)
Chlamydomonas spec.	„	0,005		Gr. K.	K. Boresch (1913)
Spirogyren	$Ba(NO_3)_2$	0,0383	2 Tg.	o	O. Loew (1893)
Spirogyra	$CuSO_4$	$8 \cdot 10^{-5}$	2 Tg.	††	Th. Bokorny (1897)
Spirogyra	„	$4 \cdot 10^{-4}$	sofort	††	O. Drechsel (1921)
Spirogyra	„	$4 \cdot 10^{-7}$	1 Tg.	††	O. Drechsel (1921)
Chlorococcum infusionum	„	$5 \cdot 10^{-5}$		††	J. Kessler (1937)
Coccomyxa simplex	„	$16 \cdot 10^{-7}$		†	M. Roberg (1932)
Chlorella vulgaris	„	$16 \cdot 10^{-7}$		†	M. Roberg (1932)
Tribonema	„	$8 \cdot 10^{-5}$	2 Tg.	††	Th. Bokorny (1897)
Cladophora	„	$2 \cdot 10^{-4}$	6 Std.	†	Th. Bokorny (1897)
Cladophora	„	$8 \cdot 10^{-5}$	2 Tg.	††	Th. Bokorny (1897)
Vaucheria	„	$8 \cdot 10^{-5}$	2 Tg.	††	Th. Bokorny (1897)
Chlorococcum infusionum	$HgCl_2$	$2 \cdot 10^{-6}$ bis 10^{-6}		††	J. Kessler (1937)
Cladophora	„	$1{,}84 \cdot 10^{-4}$	6 Std.	††	Th. Bokorny (1897)
Cladophora	„	$7{,}4 \cdot 10^{-5}$	2 Tg.	††	Th. Bokorny (1897)
Spirogyra	„	$7{,}4 \cdot 10^{-5}$	2 Tg.	††	Th. Bokorny (1897)
Tribonema Cladophora Vaucheria Spirogyra	$AgNO_3$	$5{,}88 \cdot 10^{-4}$ $11{,}76 \cdot 10^{-5}$	18 Std. 2 Tg.	††	Th. Bokorny (1897)

Zeichenerklärung: Gr. K. = Grenzkonzentration
† = Konzentration mit schädigender Wirkung
†† = Konzentration mit tödlicher Wirkung
o = Konzentration ohne Wirkung.

lautet, wurde bis auf einige geringe Abweichungen von fast allen Autoren bestätigt. Eine Einteilung der Organismen läßt sich nach dem Grad ihrer Empfindlichkeit in folgender Weise vornehmen, wobei die Ergebnisse der wichtigsten Arbeiten über Giftwirkungen berücksichtigt worden sind (Zahlentafel 14).

1. Versuche mit NaCl und KCl

Im Hinblick auf die Empfindlichkeit gegenüber NaCl läßt sich nach den aus der Literatur vorhandenen Angaben[1]) für die Algen folgende Zahlentafel aufstellen:

Zahlentafel 15

Algen:	NaCl in mol:	Bezeichnung:	Autor:
Fam. Chlorophyceae:			
Stichococcus bacillaris	0,51	Gr. K.	A. Artari (1906)
Chlorella communis	0,51—0,85	Gr. K.	„ „
Chlorella vulgaris	0,68—1,02	Gr. K.	„ „
Scenedesmus obliquus	0,68	††	H. Andreesen (1913)
Tribonema bombycina	0,94—1,11	††	J. Comère (1905)
Oedogonium longissimum . .	0,77—0,98	††	„ „
Oedogonium capillare	0,60—0,77	††	„ „
Cladophora fracta	0,81—1,02	††	„ „
Fam. Conjugatae:			
Spirogyra crassa	0,205—0,256	††	„ „
Spirogyra Weberi	0,64 —0,81	††	„ „
Zygnema stellinum	0,51	††	O. Loew (1893)

Zeichenerklärung: Gr. K. = Grenzkonzentration
†† = tödlich wirkende Konzentration.

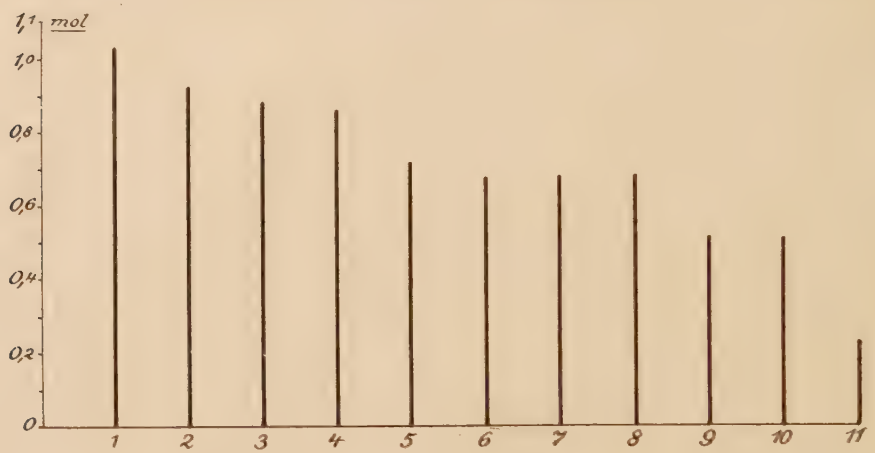
Aus vorstehender Zahlentafel (15) und der Kurve 7 ist zu entnehmen, daß ein mehr oder weniger großer Unterschied in der Empfindlichkeit gegenüber dem gleichen Salz selbst bei nah verwandten Algenarten besteht. Es scheint, als ob jede Art eine spezifische Giftigkeitsreihe besitzt, die von äußeren und inneren Faktoren abhängig ist. Die Formen, welche außer einer Membran aus Zellulose und Pektinstoffen noch eine Gallerthülle besitzen, sind daher am widerstandsfähigsten.

Es wurde bei nachfolgenden Untersuchungen von der Frage ausgegangen, ob *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus* in

[1]) Wenn ich bei einigen Algen mehrere infolge unterschiedlicher Versuchsbedingungen voneinander abweichende Ergebnisse vorfand, so habe ich den Mittelwert eingesetzt. Angaben in % wurden in mol umgerechnet.

gleicher Weise gegenüber Einwirkungen von NaCl bzw. KCl reagieren, und festgestellt, bei welcher Konzentration dieser beiden einzeln angewandten Alkalisalze die Lebensgrenze liegt.

Bekanntlich ist die Darreichung ausschließlich eines Salzes nach kurzer Zeit teils infolge der Wechselwirkung der Salzionen mit den Zellkolloiden, teils durch das Fehlen der andern zum Leben erforderlichen Salze von schädigender Wirkung, die früher oder später zum Tode der Zellen führt. Es ist daher zweckmäßiger, von der Gesamt-



Kurve 7. Obere Grenz-Werte von **NaCl** für verschiedene Algen-Arten. (Nach Literaturangaben.)

1. Tribonema bombycinum
2. Cladophora fracta
3. Oedogonium longissimum
4. Chlorella vulgaris
5. Spirogyra Weberi
6. Chlorella communis
7. Scenedesmus obliquus
8. Oedogonium capillare
9. Stichococcus bacillaris
10. Zygnema stellinum
11. Spirogyra crassa.

Nährlösung auszugehen und das zur Untersuchung benutzte Salz in steigendem Maße hinzuzugeben, wobei vorausgesetzt wird, daß hierbei keine chemischen Umsetzungen stattfinden.

Mit Rücksicht darauf wurden in Zukunft alle zu untersuchenden Lösungen in der Weise zusammengestellt, daß $^1/_5$ der Flüssigkeitsmenge aus Jacobsen-Nährlösung bestand. Somit enthält bei dieser Verdünnung jede Versuchslösung außer dem wirkenden Agens 0,004% NH_4NO_3, 0,004% HK_2PO_4 und 0,002% $MgSO_4$. Diese Menge überschreitet noch um ein Zehnfaches die Grenze der Verdünnung von Nährstoffen, bei denen Algen noch leben können, und die nach Th. Bokorny (1897) 0,00033% $Ca(NO_3)_2$, 0,00033% H_2KPO_4 und 0,00033% $MgSO_4$ beträgt. $Ca(NO_3)_2$ wurde durch NH_4NO_3 ersetzt, um eine Beeinträchtigung der Versuchsergebnisse durch die bekannte antagonistische

Wirkung des Ca zu vermeiden. Dies erschien zulässig, da nach H. Molisch (1896), W. Benecke (1898) u. a. für Protococcales Ca kein lebensnotwendiges Element darstellt (s. u. a. H. Waris (1936)).

Es wurden mehrere Versuchsreihen mit 1%igen Konzentrationsintervallen von NaCl bzw. KCl und gleichen Impfmengen von *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus* — ca. 140 000/ccm — unter Hinzufügung der Jacobsen-Nährlösung in der erwähnten Weise angesetzt und die Vitalität nach einer Versuchsdauer von 2 bzw. 5 Tagen durch Rückimpfung auf Nähragarplatten festgestellt. Folgende Konzentrationen hatten nach 2 bzw. 5 Tagen eine tödliche Wirkung, da keinerlei Vermehrung auf den entsprechenden Agarplatten nach 14 Tagen feststellbar war:

für Ankistrodesmus Braunii:

nach Tagen	NaCl		KCl	
	in mol	in %	in mol	in %
2	3,60	21	2,15	16
5	1,54	9	1,48	11

für Scenedesmus obliquus:

nach Tagen	NaCl		KCl	
	in mol	in %	in mol	in %
2	3,93	23	3,90	29
5	3.25	19	3,50	26

Aus den Untersuchungsergebnissen geht hervor, daß die ziemlich nahverwandten Arten *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus* sehr verschieden auf NaCl bzw. KCl reagieren. Während für *Ankistrodesmus Braunii* nach 2 und 5 Tagen die tödlich wirkende Konzentration von KCl geringer als die von NaCl ist, was der lyotropen Reihe K > Na entspricht, zeigt sich bei *Scenedesmus obliquus*, daß zur Abtötung nach 2 Tagen fast gleiche Mengen beider Salze erforderlich sind, während nach 5 Tagen sogar Na stärker als K wirkt, was im Widerspruch zu der F. Hofmeister'schen Reihe steht. Ähnliche Angaben finden sich mehrfach in der Literatur. So hat z. B. K. Pirschle (1930) bei seinen Versuchen mit Keimlingen höherer Pflanzen festgestellt, daß die physiologische Giftwirkung der Ionen vom Typus des Edelgases Ar — dazu gehört K — am geringsten ist. Ebenso hat K. Arens (1933) gefunden, daß Na giftiger als K ist, und A. Gurewitsch (1934) gibt an, daß Na die größere Permeïrfähigkeit

von beiden hat. Ferner stellte J. Port (1927) fest, daß die Plasmakoagulation bei *Paramaecium caudatum* in gleichmolaren Lösungen bei NaCl früher erfolgte als bei KCl.

Es ist auffallend, daß die Widerstandsfähigkeit von *Scenedesmus obliquus* gegenüber beiden Salzen beträchtlich größer ist als die von *Ankistrodesmus Braunii* und selbst nach 5 Tagen nicht wesentlich abgenommen hat. Die Ursache für diese Ergebnisse scheint mir in dem Form- und Größenunterschied der beiden Algen zu liegen und mit der dadurch bedingten größeren Fähigkeit von *Scenedesmus obliquus*, in das unempfindlichere Dactylococcus-Stadium überzugehen, in Zusammenhang zu stehen.

Vergleichende Versuche mit *Spirogyra orbicularis* und *Cladophora crispata* — es wurden mehrmals je 5 Fäden in Kolben mit Standorts-Wasser + 1% (= 0,171 mol) NaCl bzw. 1% (= 0,134 mol) KCl gebracht — ergaben wiederum, daß K schädlicher wirkte als Na. Als geschädigte Zellen wurden diejenigen gewertet, die nach der jeweiligen Versuchsdauer und anschließender Übertragung in eine 1%ige Eosin-Lösung nach Ablauf von 10 Minuten deutlich gefärbt waren (s. S. 72). Es zeigte sich dabei, daß *Cladophora crispata* ganz bedeutend widerstandsfähiger war als *Spirogyra orbicularis*, denn von letztgenannter Alge waren sämtliche Zellen in einer 100 mal kürzeren Zeit so geschädigt, daß die Eosin-Lösung eindringen konnte. Als Ergebnis wurde der Mittelwert aus je drei Versuchen zur graphischen Darstellung benutzt (s. Kurve 7 u. 8).

Ähnliche Versuche mit *Zygnema* spec. und *Oedogonium* spec. zeigten, daß diese Arten nur wenig empfindlicher sind als *Cladophora crispata*.

Außer den in der Zahlentafel 15 (s. S. 93) aufgeführten Werten der kritischen Konzentrationen finden sich in der Literatur einige Angaben über NaCl-Mengen, in welchen verschiedene Algenarten noch zu leben befähigt sind. So hat A. Richter (1892), der die Anpassung an NaCl-Lösungen untersuchte, folgendes festgestellt: Die NaCl-Konzentrationen, die in Verbindung mit einer Nährlösung von Algen noch ertragen wurden, betrugen für die

Chlorophyceen:

Tetraspora explanata ..... 25% (= 4,27 mol),
Stichococcus ..... 15% (= 2,56 mol),
Chlorella vulgaris ..... 4% (= 0,68 mol),
Cladophora glomer. gen. ... 0,5% (= 0,085 mol),
Oedogonium u. Bulbochaete 0,5% (= 0,085 mol) für 15 Tage,
„ „ „ 1% (= 0,17 mol) „ wenige Tage,
Vaucheria ..... 0,5% (= 0,085 mol) „ „ „

Conjugaten:

Cosmarium ..... 8% (= 1,36 mol) für 1 Monat,
Zygnema stellin. gen. ..... 6% (= 1,02 mol) für 2 Monate,
Mougeotia laevis ..... 4% (= 0,68 mol),
Spirogyren ..... 0,5% (= 0,085 mol) nur mit Mühe und wenige Zellen 7 Monate.

Cyanophyceen:

Anabaena flos aquae ..... 6% (= 1,02 mol) für 3 Monate.

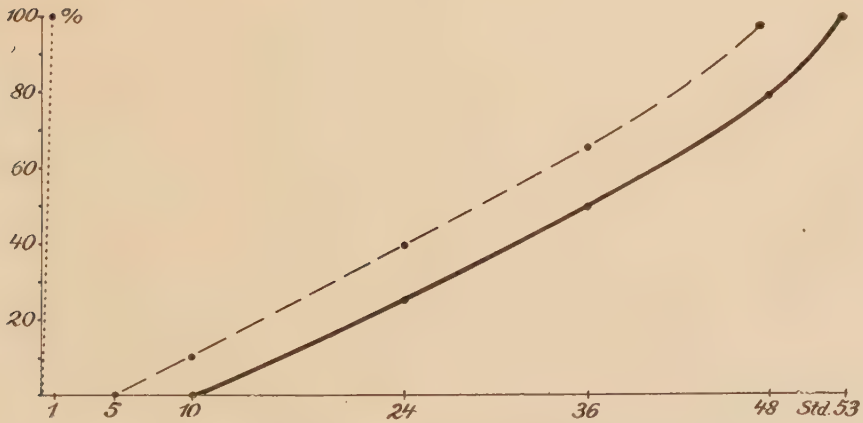
Diatomeen: ..... 10% (= 1,70 mol) über 1 Monat.

J. Comère (1905) berichtet von den Chlorophyceen *Tetraspora*, *Chlorella* und *Stichococcus*, daß sie noch in Lösungen mit 8% NaCl leben können. Bei W. Vischer (1920) findet sich die Angabe, daß die Entwicklung von *Ankistrodesmus Braunii* durch 0,033 mol NaCl verlangsamt wird.

Zahlentafel 16.

Anzahl der geschädigten Zellen in %.

nach Stunden	5	10	24	36	48	53
in 1% NaCl	0	0	25	50	80	100
in 1% KCl	0	10	40	65	100	—



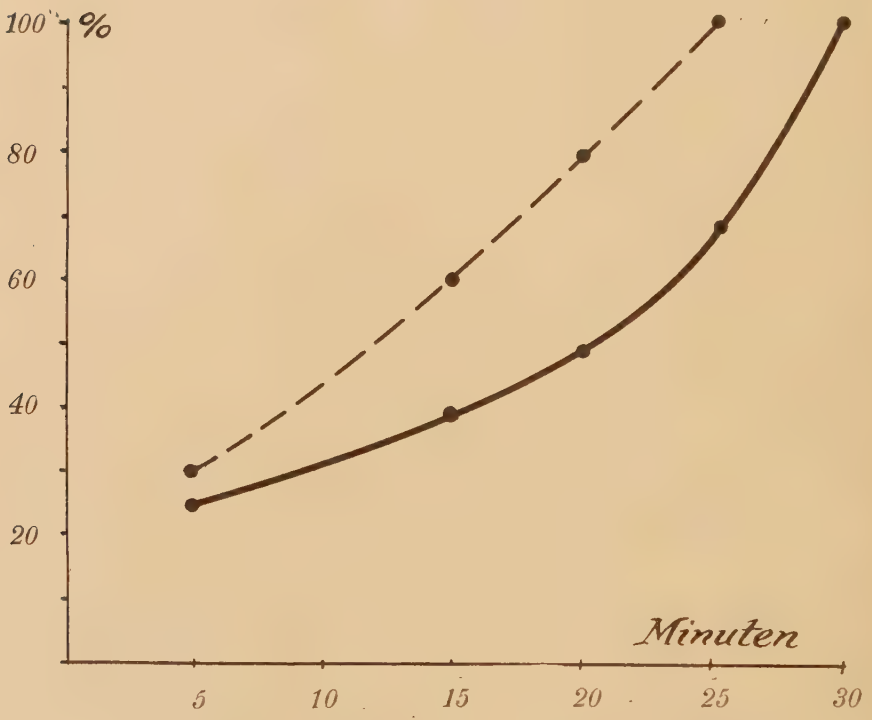
Kurve 8. Schädigung durch Chloride nach verschieden langer Einwirkungsdauer.

Zeichenerklärung: ——— *Cladophora crispata* in 1%iger NaCl-Lösung } + Standortswasser.
— — — *Cladophora crispata* in 1%iger KCl-Lösung }
..... *Spirogyra orbicularis* (Erklärung s. Kurve 9).

Zahlentafel 17.

Anzahl der geschädigten Zellen in %.

nach Min.	5	15	20	25	30
in 1% NaCl	25	40	50	70	100
in 1% KCl	30	60	80	100	—



Kurve 9. Schädigung von *Spirogyra orbicularis* durch 1% NaCl-Lösung (+ Standortswasser) und 1% KCl-Lösung (+ Standortswasser) nach verschieden langer Einwirkungsdauer.

Zeichenerklärung: ——— NaCl
— — — KCl

Vergleicht man mit diesem unbedeutenden Hinweis und dem Tabellenwert für *Scenedesmus obliquus* meine eigenen Ergebnisse, so ist ein erheblicher Unterschied festzustellen. Die Ursache dafür kann durch die Anwendung einer anderen Nährlösung und durch Rassenunterschiede bei den benutzten Versuchsalgen bedingt sein. Dagegen stimmen die Angaben von A. Richter (1892) und J. Comère (1905) hinsichtlich der nahverwandten Gattung *Tetraspora* mit den von mir erhaltenen Ergebnissen ziemlich gut überein.

R. H. True (1898) fand die Grenzkonzentration für *Spirogyra* bei 0,1 mol NaCl.

Über Versuche mit *Spirogyra neglecta* teilt W. W. Lepeschkin (1927) mit, daß in 0,1 mol KCl die Alge während 16 Stunden ungeschädigt blieb. Nach 4 Tagen waren 7% abgestorben, während der Rest deutliche Zeichen von Schädigung aufwies. Der hiermit bewiesene Grad von Unempfindlichkeit ist überraschend hoch und konnte von meiner Versuchsalge *Spirogyra orbicularis* nicht im entferntesten erreicht werden. Dagegen sind meine anderen Ergebnisse mit denen von A. Richter (1892) einigermaßen vereinbar, wenn man berücksichtigt, daß einige Unterschiede infolge Anwendung von künstlicher Nährlösung bei diesem Autor gegenüber dem von mir benutzten Wasser vom Standort im Freien naturgemäß zu erwarten sind.

Zusammenfassend kann gefolgert werden, daß die einzelligen Grünalgen bedeutend widerstandsfähiger sind als die Fadenalgen, von denen wiederum die Spirogyren die größte Empfindlichkeit zeigen.

Vergleichsweise möchte ich erwähnen, daß Robert Koch (1912) als wachstumshemmende Konzentration 0,267 mol NaCl für Milzbrandbazillen gefunden hat. G. E. Ritter (1913) gibt als Grenzkonzentration 1,67 mol NaCl für *Mucor racemosus* an. F. Boas (1927) teilt mit, daß die Widerstandsfähigkeit von *Aspergillus oryzae* bis zu 3,4 mol NaCl und 3,1 mol KCl, diejenige von *Aspergillus niger* ebenfalls bis zu 3,4 mol NaCl beträgt. Dieser Autor zitiert die Ergebnisse von F. Eschenhagen (1889), wonach das Pilzwachstum bei folgenden Salzkonzentrationen aufhört:

3,25 mol NaCl u. 2,28 mol KCl für Penicillium glaucum,
2,90 mol NaCl u. 2,42 mol KCl für Aspergillus niger,
2,05 mol NaCl u. 2,15 mol KCl für Botrytis cinerea.

Von besonderem Interesse sind die Angaben von G. Kattermann (1930), da sie sich u. a. auf Versuche mit NaCl in Verbindung mit Nährlösung stützen. Es möge hier die Wiedergabe einiger mit den widerstandsfähigsten Pilzen und Bakterien erhaltenen Resultate genügen:

Bacterium prodigiosum	1,3	(1,4)	mol NaCl,
Bacillus subtilis	1,0	(1,2)	mol NaCl,
Mucor racemosus	2,6	(2,7)	mol NaCl,
Aspergillus oryzae	3,36	(3,46)	mol NaCl,
Aspergillus niger	3,4	(3,5)	mol NaCl,
Penicillium viridicatum	3,9	(4,0)	mol NaCl,
Bacterium prodigiosum	etwas über 1,3		mol KCl.

Der erste Wert gibt die Konzentration an, bei der eben noch Wachstum möglich ist, während bei den geprüften nächst höheren Konzentrationen in ( ) keine Entwicklung mehr beobachtet werden konnte. Diese Ergebnisse, die nur für *Aspergillus oryzae* mit den von F. Boas (1927) mitgeteilten übereinstimmen, lassen erkennen, daß die von mir untersuchten Protococcales eine ähnlich große Widerstandsfähigkeit besitzen wie *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum.*

Viel geringere Werte geben W. Ruhland, H. Ullrich und G. Yamaha (1933) bei ihren Versuchen mit der Schwefelbakterie *Beggiatoa mirabilis* an. Die Verfasser haben als Grenzkonzentration 0,15 mol NaCl und 0,12 mol KCl gefunden.

Abschließend ist zu sagen, daß die hier zitierten Angaben nur bedingt miteinander vergleichbar sind, da die Versuchsbedingungen der einzelnen Autoren sehr verschieden waren. Immerhin geht aus ihnen hervor, daß auch bei den verschiedenen Bakterien und Pilzen die Empfindlichkeit gegenüber dem gleichen Salz ungleich groß ist und die Pilze die größere Widerstandsfähigkeit zu besitzen scheinen (s. a. G. Kattermann (1930)).

Über die Wirkung der Neutralsalze ist sich die Forschung im großen und ganzen einig. Das Protoplasma wird als ein kolloidales System angesehen, das zum größten Teil aus Eiweißkörpern, Lipoiden und Wasser zusammengesetzt ist. Es enthält nach W. W. Lepeschkin (1937) immer hydrophile Kolloidteilchen, die koaguliert werden können. Die disperse Phase der plasmatischen Grenzschichten besitzt lipoidartige Stoffe (u. a. Phosphatide), während das Dispersionsmittel aus Wasser besteht. Bekanntlich bietet die normale Zellwand nur ein geringes Hindernis für fast alle Salze und erst die Plasmagrenzschicht leistet Widerstand. Ebenso dürfte die den Membranen vieler Algen, Flagellaten, Cyanophyceen und Bakterien aufliegende Gallerte eine gewisse Schutzschicht bilden. Nach Eintritt der Salze in die Zelle wird ein Ausgleich zwischen osmotischem Außen- und Innendruck angestrebt, wobei der Protoplast sich dem osmotischen Überdruck anpaßt. H. Kaho (1921, 24, 26) unterscheidet zwischen den Kationen, die koagulierend (und entquellend) auf die Plasmakolloide wirken, wodurch eine Verminderung der Permeabilität in folgender Reihe entsteht: K < Na < Li < Mg < Ba < Ca, während umgekehrt die Wirkung der Anionen

peptisierend (und quellend) ist, womit eine Permeabilitätserhöhung nach der Reihenfolge: CNS > J > Br > NO_3 > Acetate > Cl > Tartrate > Citrate > SO_4 verbunden ist. Die Giftwirkung ist daher abhängig von der Permeabilität. Eine gleiche Reihenfolge der Kationen und Anionen haben auch A. Tröndle (1918), S. Prát (1922) und E. Kemmer (1928) angegeben. Die genannten Reihen stimmen mit den F. Hofmeister'schen oder lyotropen Ionenreihen vollständig überein. Die demgegenüber von J. Loeb und M. Kunitz (1923) vertretene Ansicht, daß die verschiedene Beeinflussung der Quellung durch die Ionen eine sekundäre Erscheinung und ausschlaggebend nur die Wertigkeit der Ionen sei, wird von H. Walter (1924) widerlegt. Eine mit der Zeit abnehmende Permeabilität für Alkalisalze, dagegen Impermeabilität für Erdalkalien hat H. Fitting (1915) nachgewiesen (s. a. A. Tröndle (1918), H. Kaho (1921, 24)). Über die Wirkung der Alkalichloride im besonderen berichtet F. Czapek (1910), daß Na- und K-Ionen nur langsam und schwer die Plasmahaut durchdringen. Dies dürfte durch meine Versuchsergebnisse bestätigt sein, da erst sehr starke Konzentrationen von NaCl und KCl die benutzten Algen abtöten konnten. Ph. Eisenberg (1919) erkennt als „ursächliches oder mitbedingendes Moment" der Wirkung von Neutralsalzen Dispersitätsänderungen der Protoplasmakolloide an. Nach demselben Autor sollen „außer der Wertigkeit der Kationen ihre Lösungstension sowie die (damit zusammenhängende) Neigung zur Hydrolyse, in manchen Fällen auch die Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen sowie die Dissoziationsgröße der Salze als wirkungsbedingende Faktoren mitspielen". R. Höber (1908) bringt Beispiele dafür, daß Neutralsalzwirkungen von der Reaktion der Systeme abhängig sind und die Ionenreihen bei saurer Reaktion umgekehrt lauten als bei alkalischer, während sie bei annähernd neutraler Reaktion unregelmäßig sind.

2. Organische Säuren

Die Wirkung organischer Säuren wurde bisher hauptsächlich bei Bakterien und Pilzen festgestellt, während mit Algen weit weniger gearbeitet worden ist..

Als Versuchsobjekte dienten mir wie bisher die Protococcales *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus.*

Es handelte sich bei den Untersuchungen um folgende Fragestellung:

a) Welches sind die tödlich wirkenden Konzentrationen mehrerer organischer Säuren für diese Algen bei Zugabe von geringer Menge Nährlösung und verschieden langer Einwirkungsdauer? Wird dabei im besonderen das Reizmengengesetz bestätigt?

b) Wie ist die Wirkung der verschiedenen Säuren zu erklären?

Folgende organische Säuren wurden untersucht:

α) die einbasischen Fettsäuren: Ameisensäure,
Essigsäure,
Propionsäure,
Buttersäure.

β) die Dicarbon- und Oxysäuren: Oxalsäure und
Äpfelsäure,
Weinsäure,
Citronensäure.

Als Vertreter einer carbocyklischen Verbindung:

γ) die Oxybenzoesäure (Salicylsäure).

Alle Säuren waren von der Firma Schering, Berlin, flüssig bzw. kristallin „reinst" pro analysi bezogen worden.

a) Ermittlung der tödlich wirkenden Konzentrationen

Die zur Untersuchung benutzte Lösung wurde folgendermaßen hergestellt:

20 ccm Jacobsen-Nährlösung und die berechnete Säuremenge wurden mit Aqua dest. auf 100 ccm aufgefüllt. Anschließend fand eine Kontrolle der gewünschten Säurekonzentration durch Titration mit n bzw. n/10 NaOH statt. Darauf wurde die Versuchslösung auf zwei Kochkolben gleichmäßig verteilt und der eine mit *Ankistrodesmus Braunii*, der andere mit *Scenedesmus obliquus* beimpft. Das Material zur Beimpfung wurde von Nähragarplatten-Kulturen entnommen, die ca. 10 bis 20 Tage alt waren und eine lebhafte Vermehrung der Algen zeigten. Um Fehlerquellen zu vermeiden, wurde eine Methode gefunden, die eine gleichmäßige Beimpfung bei allen Versuchskolben gewährleistete. Sie bestand darin, daß mit einer kreisrund gebogenen Platinöse von bestimmtem Durchmesser ein Agarstückchen mit Algen ausgestochen und

durch Abspülen die probeweise Beimpfung eines Kolbens mit 50 ccm Flüssigkeit vorgenommen wurde. Das anschließende Auszählen von 3 Tropfen unter dem Mikroskop ergab die Dichte der Algen in 1 ccm Lösung. Da ich infolge vorheriger gleichmäßiger Beimpfung der Plattenkulturen eine gleichmäßige Vermehrungsdichte an allen Impfstellen erwarten konnte — mehrmalige mikroskopische Kontrolle sowie Augenschein bestätigten dies —, so war mit der auf Grund der Vorprobe errechneten Größe des Durchmessers der Platinöse die Gewähr gegeben, daß beim Ausstechen ungefähr die gleiche Anzahl von Algen mit dem Agarstückchen übertragen wurde. Die Impfmenge betrug bei allen meinen Versuchen ca. 140 000 Zellen pro ccm, wozu ich bemerken möchte, daß einige Vergleichsversuche, die mit der Hälfte bzw. einem Viertel dieser Menge pro ccm angestellt worden waren, übereinstimmende Ergebnisse aufwiesen, so daß im allgemeinen eine Beeinflussung der Ergebnisse infolge Abhängigkeit der Giftwirkung von der Algenmenge — wenigstens innerhalb weiter Grenzen — nicht anzunehmen ist.

Während sich die Zellen von *Ankistrodesmus Braunii* sehr leicht von dem Agar abspülen ließen, zeigten die Kulturen von *Scenedesmus obliquus* mit zunehmendem Alter ein stärkeres Haften an ihrem Substrat. Um zu vermeiden, daß bei zu heftigem Schütteln losgerissene Agarstückchen mit in die Versuchslösung gerieten, mußten diese Algen aus Flüssigkeitskulturen entnommen werden. Nachdem die Kulturlösung durch Zentrifugieren entfernt und durch Versuchslösung ersetzt worden war, wurde durch mikroskopisches Auszählen die Dichte in 1 ccm festgestellt. Danach konnte berechnet werden, wieviel ccm von der Kulturlösung benötigt wurden, damit für alle Versuchskolben die gleiche Impfmenge wie aus den Agarkulturen entnommen werden konnte.

Die pH-Messung wurde elektrometrisch jedesmal bei Beginn und am Ende der Versuche vorgenommen. Die dabei manchmal bei längerer Versuchsdauer aufgetretenen Unterschiede waren geringfügiger Natur.

Durch Vorversuche mit größeren Konzentrations-Intervallen wurde für jede Säure die obere und untere Grenze festgestellt, zwischen welcher die tödliche Konzentration für jede Algenart bei der Versuchsdauer von 24 Stunden sich befinden mußte. Wenn das Reizmengengesetz seine Bestätigung fand, dann war aus der ungefähren Ermittlung des ersten Wertes auch annähernd die Lage der Grenzkonzentrationen

bei längerer Versuchsdauer zu berechnen, so daß ich zur genauen Einengung der Lebensgrenzen mit Serien von 4 bis 8 Konzentrationsstufen auskommen konnte. Diese Erwartung bestätigte sich im Laufe der Untersuchungen bei allen Säuren mit Ausnahme der Oxysäuren, worauf ich noch zurückkomme.

a) Die einbasischen Fettsäuren

Untersucht wurden Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure. Versuchsdauer waren 1, 2, 5, 10, 15 und 30 Tage. Die Intervalle bei den einzelnen Kolben-Serien waren je nach Länge der Versuchsdauer und Wirkung der Säure verschieden groß, und zwar waren sie um so kleiner, je stärker die Säure in ihrer abtötenden Wirkung und je länger die Versuchsdauer war. Bei den 30-Tage-Versuchen waren die Zwischenräume zehnmal geringer als bei den 24-Stunden-Serien. Da mit der Länge der Zeit auch der Multiplikator bei Anwendung des Reizmengengesetzes wächst, so ist mit dieser Anordnung erreicht worden, daß die Fehler auf ein Minimum beschränkt blieben und die Ergebnisse nicht beeinflussen konnten.

Zahlentafel 18.
Konzentrations-Intervalle in %

Versuchszeit in Tg. .	1	2	5	10	15	30
Ameisensäure	0,01	0,005	0,005	0,001	0,001	0,001
Essigsäure	0,1	0,1	0,05	0,05	0,01	0,01
Propionsäure						
Buttersäure						

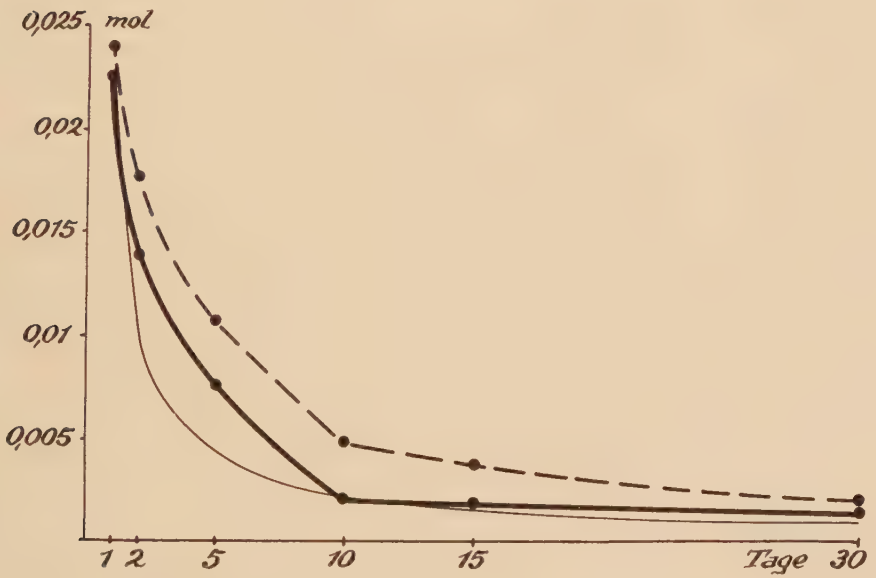
Nachdem die Algen die angegebene Zahl von Tagen in dem Gemisch von Säure- + Nährlösung verblieben waren, wurde die Rückimpfung auf Nähragarplatten und die mikroskopische Kontrolle in der früher erwähnten Weise vorgenommen. Um Zufallsergebnisse auszuschließen, wurde jeder zuerst gefundene Wert durch eine zweite Serie nachkontrolliert. Nur in seltenen Fällen wurde eine dritte Wiederholung nötig, die ausschlaggebend für das Endergebnis war.

Die Ergebnisse sind in folgenden Zahlentafeln mit anschließender graphischer Darstellung zusammengefaßt (s. S. 105—108).

Zahlentafel 19.

Art	1. Tag			2. Tag			5. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br.	0,0217	2,66	0,022	0,0141	2,72	0,028	0,0076	2,88	0,038
Scened. obl.	0,0239	2,65	0,024	0,0174	2,68	0,035	0,0109	2,79	0,054

Art	10. Tag			15. Tag			30. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br.	0,00196	3,43	0,020	0,00174	3,45	0,026	0,0011	3,50	0,033
Scened. obl.	0,0047	3,02	0,047	0,00392	3,16	0,059	0,00196	3,43	0,059



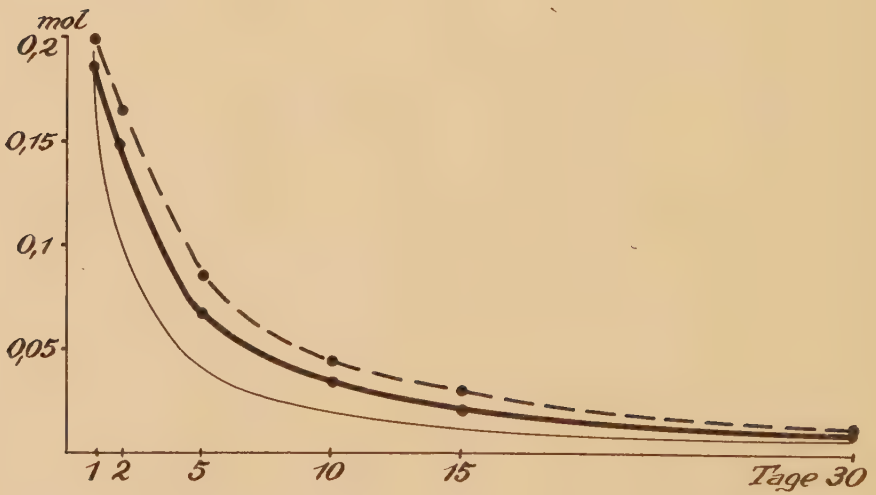
Kurve 10. Tödlich wirkende Konzentrationen von Ameisensäure (+ 1/5 verd. Jacobsen-Nährlösung) nach verschieden langer Einwirkungsdauer.

Zeichenerklärung: ——— *Ankistrodesmus Braunii*
— — — *Scenedesmus obliquus*
——— Intensität · Zeit = k.

Zahlentafel 20.

Art	1. Tag			2. Tag			5. Tag		
	mol	pH	I t	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br.	0,183	2,66	0,18	0,15	2,68	0,30	0,0667	2,86	0,33
Scened. obl.	0,20	2,65	0,20	0,167	2,67	0,33	0,0835	2,82	0,42

Art	10. Tag			15. Tag			30. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br.	0,0333	3,07	0,33	0,0233	3,25	0,35	0,00835	3,42	0,25
Scened. obl.	0,0417	2,97	0,42	0,0283	3,16	0,42	0,010	3,39	0,30



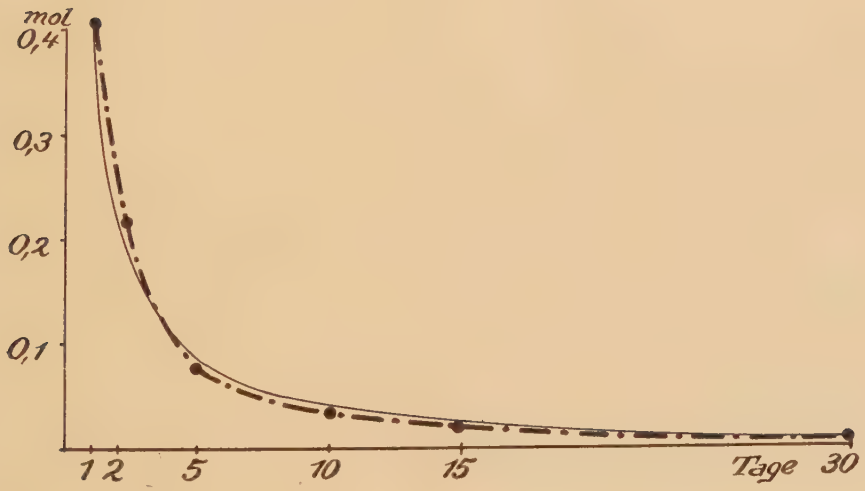
Kurve 11. Tödlich wirkende Konzentrationen von Essigsäure (+ 1/5 verd. Jacobsen-Nährlösung) nach verschieden langer Einwirkungsdauer.

Zeichenerklärung: ——— *Ankistrodesmus Braunii*
— — — *Scenedesmus obliquus*
——— Intensität · Zeit = k.

Zahlentafel 21.

Art	1. Tag			2. Tag			5. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br.	0,405	2,36	0,41	0,216	2.68	0,43	0,0743	2,90	0,37
Scened. obl.	„	„	„	„	„	„	„	„	„

Art	10. Tag			15. Tag			30. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br	0,0338	3,04	0,34	0,02025	3,18	0,30	0,0095	3,28	0,29
Scened. obl.	„	„	„	„	„	„	„	„	„



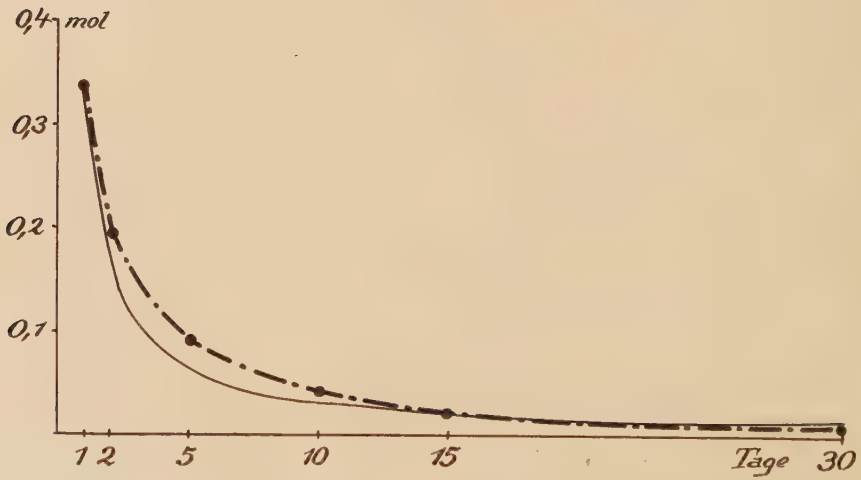
Kurve 12. Tödlich wirkende Konzentrationen von Propionsäure (+ 1/5 verd. Jacobsen-Nährlösung) nach verschieden langer Einwirkungsdauer.

Zeichenerklärung: — · — · — *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus*
——— ——— Intensität · Zeit = k.

Zahlentafel 22.

Art	1. Tag			2. Tag			5. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br. Scened. obl.	0,341	2,54	0,34	0,193	2,70	0,39	0,0852	2,90	0,43
	„	„	„	„	„	„	„	„	„

Art	10. Tag			15. Tag			30. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br. Scened. obl.	0,0398	3,12	0,40	0,0227	3,24	0,34	0,0091	3,49	0,27
	„	„	„	„	„	„	„	„	„



Kurve 13. Tödlich wirkende Konzentrationen von Buttersäure (+ 1/5 verd. Jacobsen-Nährlösung) nach verschieden langer Einwirkungsdauer.
Zeichenerklärung: — · — · — *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus*
———— Intensität · Zeit = k.

Der Kurvenverlauf hat bei allen 4 Säuren einen gleichartigen Charakter. Würde das Reizmengengesetz genau zutreffen, so müßten die Kurven gleichseitige Hyperbeln sein. Das ist nun zwar nicht absolut, aber doch annähernd der Fall, so daß für die einbasischen Fettsäuren das Reizmengengesetz $I \cdot t = k$ nahezu bestätigt werden konnte. Ordnet man die Säuren nach ihrer Giftigkeit, so ergibt sich die Reihenfolge: Ameisensäure 〉 Essigsäure 〉 Buttersäure 〉 Propionsäure. Während *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus* gegenüber Buttersäure und Propionsäure von gleicher Empfindlichkeit waren, erwies sich *Scenedesmus obliquus* gegenüber Ameisensäure und Essigsäure als die widerstandsfähigere von beiden Algen, wie dies auch bei früher erwähnten Versuchen mit Salzen in Erscheinung trat.

β) Dicarbon- und Oxysäuren

Als Vertreter dieser Gruppen wurden untersucht die Oxalsäure, die racemische Äpfelsäure und die d-Weinsäure, die sämtlich zweibasisch sind. Von dreibasischen Säuren wurde die Citronensäure benutzt.

Versuchsanordnung und -dauer entsprachen den bei den Fettsäuren angegebenen Werten. Jedoch wurden die Untersuchungszeiten bei Äpfel- und Weinsäure auf längstens 10 Tage begrenzt, da die ihre Wirkungsweise innerhalb dieser Zeit charakterisierenden graphischen Kurven deutliche Rückschlüsse auf den weiteren Verlauf zulassen.

Zahlentafel 23.
Konzentrations-Intervalle in %

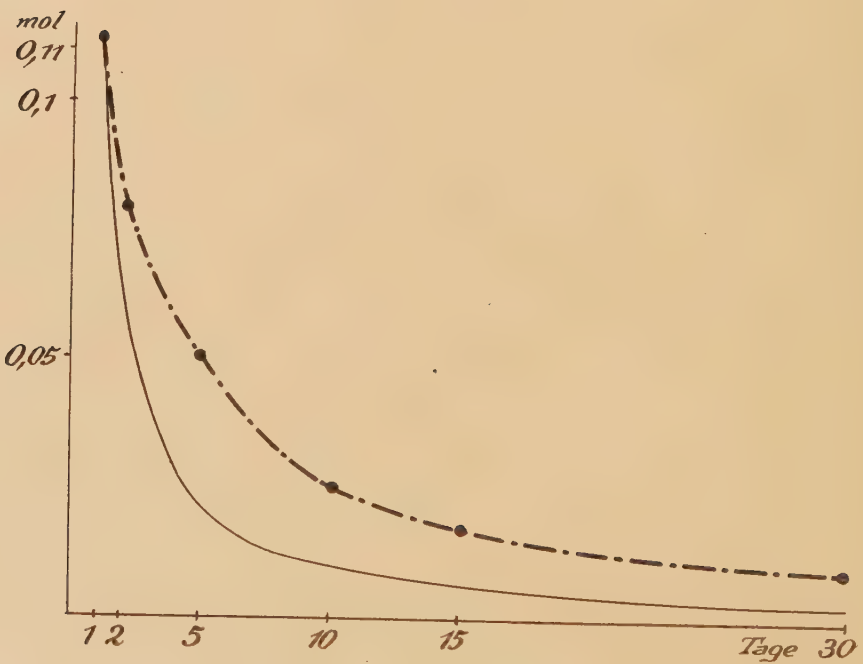
Versuchszeit in Tg.	1	2	5	10	15	20
Oxalsäure	0,1	0,1	0,05	0,01	0,01	0,01
Citronensäure	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Apfelsäure Weinsäure	1,0	1,0	1,0	1,0	—	—

Auf Grund der in Zahlentafeln zusammengefaßten Ergebnisse läßt sich die Wirkungsweise der einzelnen Säuren folgendermaßen graphisch darstellen (s. S. 110—113).

Zahlentafel 24.

Art	1. Tag			2. Tag			5. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br.	0,111	1,48	0,11	0,078	1,66	0,16	0,050	1,78	0,25
Scened. obl. . .	„	„	„	„	„	„	„	„	„

Art	10. Tag			15. Tag			30, Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br.	0,0233	1,87	0,23	0,0189	1,93	0,28	0,0089	2,03	0,27
Scened. obl. . .	„	„	„	„	„	„	„	„	„



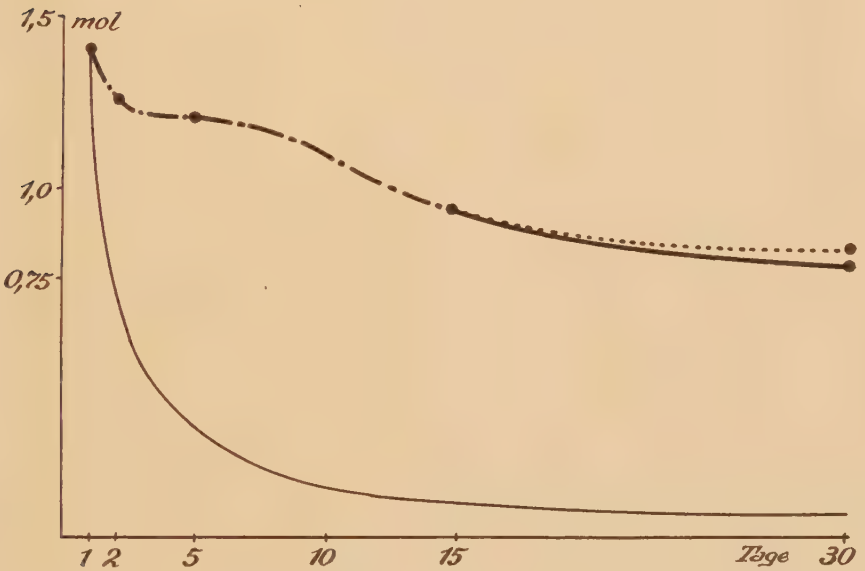
Kurve 14. Tödlich wirkende Konzentration von Oxalsäure (+ 1/5 verd. Jacobsen-Nährlösung) nach verschieden langer Einwirkungsdauer.

Zeichenerklärung: — - — - — *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus*
———— Intensität · Zeit = k.

Zahlentafel 25.

Art	1. Tag			2. Tag			5. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br.	1,406	1,28	1,4	1,25	1,34	2,5	1,20	1,38	6,0
Scened. obl. . . .	„	„	„	„	„	„	„	„	„

Art	10. Tag			15. Tag			30. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br.	1,094	1,44	10,9	0,937	1,50	14,0	0,781	1,56	23,4
Scened. obl. . .	„	„	„	„	„	„	0,834	1,54	25,0

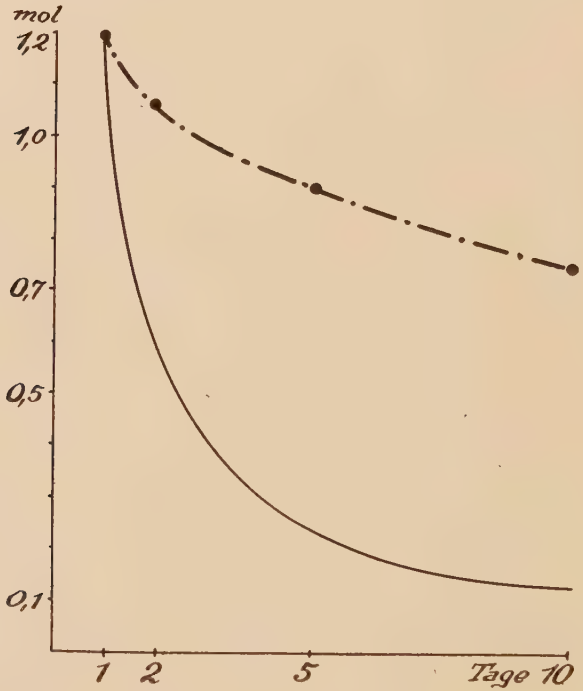


Kurve 15. Tödlich wirkende Konzentration von Citronensäure (+ 1/5 verd. Jacobsen-Nährlösung) nach verschieden langer Einwirkungsdauer.

Zeichenerklärung: — · — · — · *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus*
Ankistrodesmus Braunii
- - - - - - - - - - - *Scenedesmus obliquus*
Intensität · Zeit = k.

Zahlentafel 26.

Art	1. Tag			2. Tag			5. Tag			10. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br.	1,19	1.52	1,19	1,04	1,56	2,08	0,90	1,63	4,50	0,746	1,68	7,46
Scened. obl. . .	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„

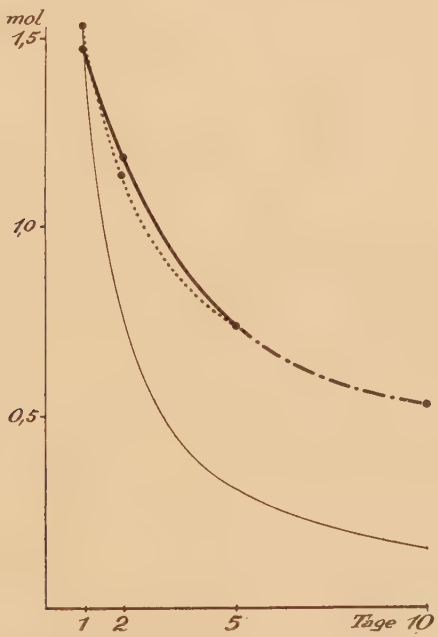


Kurve 16. Tödlich wirkende Konzentrationen von inaktiver Äpfelsäure (+ 1/5 verd. Jacobsen-Nährlösung) nach verschieden langer Einwirkungsdauer.

Zeichenerklärung: —·—·— *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus*
———— Intensität · Zeit = k.

Zahlentafel 27.

Art	1. Tag			2. Tag			5. Tag			10. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br.	1,53	0,87	1,53	1,07	1,33	2,14	0,733	1,48	3,67	0,533	1,58	5,33
Scened. obl. . .	1,47	0,89	1,47	1,13	1,30	2,26	„	„	„	„	„	„



Kurve 17. Tödlich wirkende Konzentrationen von d-Weinsäure (+ 1/5 verd. Jacobsen-Nährlösung) nach verschieden langer Einwirkungsdauer.

Zeichenerklärung: —.—.— *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus*
——— *Ankistrodesmus Braunii*
- - - - - - - - *Scenedesmus obliquus*
——————— Intensität · Zeit = k.

Während die Oxalsäure bekanntlich eine sehr starke abtötende Wirkung ausübt und, wie die Ergebnisse zeigen, dem Reizmengengesetz folgt, verhalten sich die Oxysäuren gänzlich anders. Sie sind nicht nur von verhältnismäßig schwacher Wirkung, da erst sehr hohe Konzentrationen die Algen abzutöten vermögen, sondern lassen auch in ihrem Kurvenverlauf erkennen, daß ihr Verhalten mit dem Reizmengengesetz nicht vereinbar ist. Die zweibasischen Äpfel- und Weinsäure sind sich in ihrer Wirkung einander ähnlich, wobei die entsprechenden Kurven nach anfangs ziemlich steilem Abfall bald eine merkliche Abweichung von der Hyperbel zeigen. Zum Unterschied von diesen ergibt die dreibasische Citronensäure kein einheitliches Bild. Sie nimmt nach kurzem Steilabfall einen unregelmäßigen Verlauf mit mehrfach wechselnder Krümmungsrichtung. Daraus ergibt sich, daß die Algen möglicherweise imstande sind, sich nach einiger Zeit auch an starke Konzentrationen der Oxysäuren bis zu einem gewissen Grade zu gewöhnen und sich den veränderten Lebensbedingungen anzupassen.

γ) Die Salicylsäure

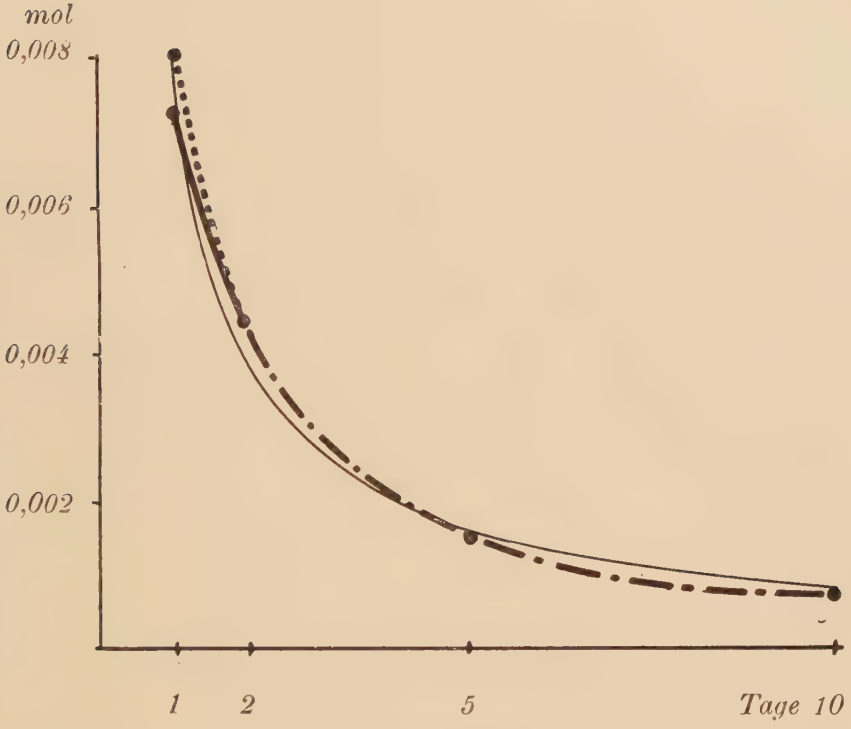
Die Oxybenzoe- oder Salicylsäure wurde als Vertreter aromatischer Säuren in die Untersuchungen mit einbezogen um festzustellen, ob die große antiseptische Wirkung, die sie gegenüber Bakterien besitzt, auch in einer starken Toxizität gegenüber Algen zum Ausdruck kommt. Die Versuchsdauer betrug bis zu 10 Tagen. Die Konzentrationsstufen unterschieden sich innerhalb jeder Serie um 0,01%. Die Anordnung und Ausführung waren die gleichen wie früher.

Aus folgender Zahlentafel ist das Ergebnis ersichtlich, welches anschließend in graphischer Darstellung veranschaulicht wird (s. Kurve 18).

Zahlentafel 28.

Art	1. Tag			2. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank Br.	0,0072	2,64	0,0072	0,00435	2,74	0,0087
Scened. obl.	0,0080	2,61	0,0080	„	„	„

Art	5. Tag			10. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br.	0,00145	3,04	0,0073	0,00072	3,12	0,0072
Scened. obl.	„	„	„	„	„	„



Kurve 18. Tödlich wirkende Konzentrationen von Salicylsäure (+ 1/5 verd. Jacobsen-Nährlösung) nach verschieden langer Einwirkungsdauer.

Zeichenerklärung: —.—.— *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus*
——— *Ankistrodesmus Braunii*
- - - - - - - - *Scenedesmus obliquus*
——— Intensität · Zeit = k

Es zeigt sich, daß die Salicylsäure unter allen von mir geprüften Säuren die stärkste Giftwirkung besitzt. Damit ist erwiesen, daß sie ebenso bakterizid wie algizid wirkt, und zwar in gleicher Weise auf *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus.* Der Kurvenverlauf läßt erkennen, daß das Reizmengengesetz hier mit ziemlich großer Genauigkeit zutrifft.

Um nun die erhaltenen Resultate mit den in der Literatur angegebenen Werten zu vergleichen, lasse ich anschließend eine Zusammenstellung über Giftwirkung organischer Säuren auf Algen folgen. Dabei wurden Konzentrationsangaben in % in mol umgerechnet.

Zahlentafel 29.

Art	Säure	Menge in mol	Zeit	Wirkung	Autor
Euglena	HCOOH	0,00544		Kr. K.	K. Linsbauer (1915)
Euglena	CH_3COOH	0,0055		Kr. K.	K. Linsbauer (1915)
Vaucheria	„	0,0333		††	P. Klemm (1895)
Spirogyra	„	0,0333		††	P. Klemm (1895)
Euglena	C_2H_5COOH	0,00554		Kr. K.	K. Linsbauer (1915)
Euglena	C_3H_7COOH	0,00545		Kr. K.	K. Linsbauer (1915)
Euglena gracilis	$H_2C_2O_4$	0,0198 bis 0,0397	48 Std.	†	H. Zumstein (1900)
Euglena gracilis	„	0,0794	48 Std.	††	H. Zumstein (1900)
Spirogyra orbicularis	„	0,00159 bis 0,000318	12 Std. bis 14 Tg.	††	W. Migula (1888)
Spirogyra majuscula	„	$7{,}94 \cdot 10^{-6}$	5 Tg.	†	O. Loew (1892)
Spirogyra majuscula	„	$7{,}94 \cdot 10^{-4}$	12 Std.	† u. ††	O. Loew (1892)
Euglena gracilis	$H_6C_4O_6$	0,267—0,4	14 Tg.	f. ††	H. Zumstein (1900)
Sphaeroplea	„	0,00067	einige Tg.	††	O. Loew (1892)
Sphaeroplea	„	0,00333	24 Std.	††	O. Loew (1892)
Spirogyra	„	0,00067	einige Tg.	††	O Loew (1892); Th. Bokorny (1896)
Spirogyra	„	0,00333	24. Std.	††	O Loew (1892); Th. Bokorny (1896)
Spirogyra majuscula	„	$6{,}7 \cdot 10^{-5}$	7 Tg.	o	O. Loew (1892)
Sphaeroplea	Äpfelsäure	0,000746	einige Tg.	††	O. Loew (1892)
Sphaeroplea	„	0,00373	24 Std.	††	O. Loew (1892)
Spirogyra	„	0,000746	einige Tg.	††	O. Loew (1892); Th. Bokorny (1896)
Spirogyra	„	0,00373	24 Std.	††	O. Loew (1892); Th. Bokorny (1896)
Euglena gracilis	„	0,0373 bis 0,0746	42 Std.	†	H. Zumstein (1900)
Euglena gracilis	„	0,15	42 Std.	f. ††	H. Zumstein (1900)
Euglena gracilis	„	0,3	42 Std.	††	H. Zumstein (1900)
Spirogyren, Zygnemen	„	0,000746		o	O. Loew und Th Bokorny (1887)
Spirogyren, Zygnemen	„	0,00746	24 Std.	††	O. Loew und Th Bokorny (1887)
Euglena gracilis	Citronensäure	0,143—0,19	88 Std.	o	H Zumstein (1900)
Euglena gracilis	„	0,19—0,238	5 Tg.	o	H. Zumstein (1900)
Euglena gracilis	„	0,238—0,286	17 Tg.	f. ††	H. Zumstein (1900)
Sphaeroplea, Spirogyra	„	0,00476	30 Min.	††	O. Loew (1892); Th. Bokorny (1896)
Spirogyra orbicularis	„	0,000952	2 Tg.	††	W. Migula (1888)
Spirogyra orbicularis	„	0,00715	6 Tg.	††	W. Migula (1888)
Diatomeen	$H_6C_4O_6$	0,00667		o	Th. Bokorny (1905)

Zeichenerklärung: Kr. K = Kritische Konzentration
† = Konzentration mit schädigender Wirkung
†† = Konzentration mit tödlicher Wirkung
o = Konzentration ohne Wirkung

Ein Vergleich der Tabellenwerte mit den von mir erhaltenen Grenzwerten läßt auf den ersten Blick erkennen, daß die Angaben bei fast allen Säuren und Versuchsobjekten innerhalb ziemlich weiter Grenzen schwanken. Den von mir erhaltenen Werten am nächsten kommen lediglich die von H. Zumstein (1900) bei *Euglena gracilis* gefundenen tödlich wirkenden Konzentrationen von Oxalsäure bei 2-tägiger und Weinsäure bei 14-tägiger Versuchsdauer. Wenn auch die Zusammenstellung dieser sicherlich unter sehr verschiedenen Versuchsbedingungen erhaltenen Ergebnisse nur sehr begrenzte Vergleichsmöglichkeiten gestattet, so scheint doch, daß im großen und ganzen die Fadenalgen sehr viel empfindlicher als die einzelligen Organismen sind.

Es ist ferner nicht uninteressant, mit meinen Werten auch die Untersuchungsergebnisse zu vergleichen, die andere Autoren bei Bakterien und Pilzen erhalten haben. Aus der Fülle der Arbeiten will ich nur diejenigen hervorheben, deren Versuchsergebnisse unter denselben Bedingungen wie in der vorliegenden Arbeit, d. h. bei Anwendung von Säuren + Nährlösung gewonnen worden sind.

Bei den Versuchen C. Wehmers (1901) mit Buttersäure ergab sich, daß Bakterien widerstandsfähiger als Schimmelpilze waren, denn erst eine Konzentration von 0,227—0,341 mol Buttersäure verhinderte während der Versuchsdauer von 30 Tagen die Bakterienentwicklung in der Maische, während Schimmelpilze schon in Bruchteilen von Prozenten nicht mehr entwicklungsfähig waren. Da der Grenzwert für Buttersäure bei meinen Algen mit den Angaben C. Wehmers übereinstimmt, so ist die Resistenz der Algen und Bakterien in diesem Fall gleich groß. Allerdings dürfte es sich bei C. Wehmers Ergebnissen um eine Ausnahmeerscheinung handeln, da im allgemeinen Bakterien gegen Säuren viel empfindlicher sind als Schimmelpilze (s. a. Th. Bokorny (1913)).

Bei C. Meissner (1902) wirken tödlich auf: *Aspergillus niger* 0,00725 mol Salicylsäure, *Penicillium glaucum* 0,0058 mol Salicylsäure und *Mucor stolonifer* 0,00363 mol Salicylsäure. Bei G. E. Ritter (1913) findet man die Angabe, daß selbst 2,0 mol Weinsäure auf *Aspergillus niger* (zitiert nach Nikitinski) und 1,04 mol Citronensäure auf *Citromyces* (zitiert nach C. Wehmer) ohne Einfluß sind. Dagegen liegt die Grenzkonzentration nach Versuchen Ritters bei 0,22 mol Oxalsäure für *Aspergillus niger*, 0,433 mol Weinsäure für *Penicillium glaucum* und 0,3385 mol Citronensäure für *Mucor racemosus*. H. J. Waterman (1914), der mit *Penicillium glaucum* gearbeitet hat, gibt folgende tödlich wirkenden Werte an: 0,0397 mol Ameisensäure, 0,025 mol Buttersäure und 0,11 mol Oxalsäure. Demgegenüber werden noch

ertragen: 0,0033 mol Essigsäure, 0,0125 mol Buttersäure, 0,026 mol Propionsäure und 0,0217 mol Oxalsäure.

Vergleicht man mit diesen Angaben die von mir erhaltenen Ergebnisse, so ist zu erkennen, daß *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus* fast die gleiche Widerstandsfähigkeit wie das Mycel von *Aspergillus niger* besitzen, der zu den am meisten säureresistenten Pilzen zu rechnen ist. Dagegen zeigt sich *Penicillium glaucum* nur bezüglich der Ameisensäure unempfindlicher als meine beiden Algenarten, während von den anderen Säuren schon geringere Konzentrationen tödlich wirken. Alle übrigen genannten Pilze erweisen sich als zum Teil bedeutend empfindlicher.

b) Über die Ursachen der Giftigkeit organischer Säuren.

Die Giftwirkung der organischen Säuren auf Zellwand und Protoplasma sind der Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen. Es handelte sich dabei in erster Linie um die Fragen, auf welchem Wege gelangen die organischen Säuren in die Zelle, und in welcher Weise wirken sie auf das Plasma ein? Als einer der ersten Forscher auf diesem Gebiet ist E. Overton (1895, 96, 99) zu nennen, dessen Lipoidtheorie in ihren Grundzügen in mancher Beziehung auch heute noch Bedeutung hat (s. a. F. Czapek (1911), E. Harvey (1911), R. Collander (1921), K. Höfler und Fr. Weber (1926)). Da durch diese Theorie jedoch nicht alle Probleme befriedigend gelöst werden konnten, wurde sie in der Folgezeit Gegenstand zahlreicher Diskussionen (s. E. Küster (1911), W. J. V. Osterhout (1914), B. Hansteen-Cranner (1922)). Die Tatsache, daß lipoidlösliche Substanzen ebenso leicht wie Wasser die Plasmahaut passieren können, dadurch zu erklären, daß eine besondere Struktur der Plasmahaut angenommen wird, wonach die Interstitien zwischen den Plasmateilchen durch einen cholesterinartigen Stoff ausgefüllt sein sollen, ist das Hauptargument der Mosaiktheorie. Sie wurde indessen von W. Ruhland (1909) und W. W. Lepeschkin (1911) widerlegt. Im Gegensatz zu Lipoid- und Mosaiktheorie entwickelte W. Ruhland (1912—14) seine Ultrafiltertheorie. Danach kommt der Plasmahaut eine Filterwirkung zu, derzufolge die Kolloidaufnahme von der Teilchengröße abhängt. Diese Theorie hat wie die Lipoidtheorie zahlreiche Anhänger: E. Pantanelli (1915), W. Ruhland und C. Hoffmann (1924, 26), S. Schönfelder (1931), K. T. Wieringa (1930) und K. Förster (1933)). R. Höber (1908) glaubte die Lipoidtheorie stützen zu können, indem er zwischen „physikalischer" Permeabilität, die für

lipoidlösliche Stoffe gelten sollte, und „physiologischer" Permeabilität unterschied, wobei er für das lebende Protoplasma eine die Aufnahme nicht-lipoidlöslicher Stoffe regulierende Eigenschaft annahm. J. Traube (1904, 08, 10, 24, 25) stellte durch seine Oberflächenaktivitäts- bzw. Haftdrucktheorie eine Verbindung zur Lipoidtheorie her, indem er die Parallelität zwischen Oberflächenaktivität und Lipoidlöslichkeit nachwies. Daß bei der Stoffaufnahme im besonderen Adsorptionsvorgängen eine entscheidende Bedeutung zukommt, wird vor allem von F. Czapek (1915), J. Endler (1912), J. Szücs (1910, 12), E. Pantanelli (1915, 29), B. Hansteen-Cranner (1922), T. Tomita (1924), R. Höber (1926), J. Traube (1928) und N. W. Taylor (1928) betont.

R. Collander vertritt den Standpunkt, daß weder die Ultrafiltertheorie noch die Lipoidtheorie für sich zur Erklärung der Vorgänge ausreichen (1921; s. a. R. Collander und H. Bärlund (1933)). Er suchte die Grundzüge beider in seiner Lipoidfiltertheorie (1925) zu vereinigen, indem er behauptete, daß sowohl die Lipoidlöslichkeit als auch eine gewisse Ultrafilterwirkung über die Permeabilität entscheiden (s. a. R. Collander und H. Bärlund (1926)). Zu dieser neuen Theorie bekennen sich auch L. A. P. Poijaervi (1928), H. Bärlund (1929), W. Holdheide (1930) und K. Höfler (1934).

Nach dem Durchdringen der Zellmembran, die bei den Grünalgen vorwiegend aus Zellulose besteht, ist die weitere Beeinflussung des Protoplasmas in verschiedener Weise gedeutet worden, je nachdem, welcher vorgenannten Theorie der Autor die größte Wahrscheinlichkeit zuerkannte.

J. Traube, L. J. Weber und C. Guirini (1930) stellen für Fettsäuren, Alkohole u. a. die Regel auf, daß mit wachsender CH_2-Gruppenzahl bzw. C-Kette die Permeabilität und Oberflächenaktivität im Verhältnis $1 : 3 : 3^2 \ldots\ldots$ zunimmt (s. a. N. W. Taylor (1928)). Dies mag für Alkohole zutreffen, wie F. Carter (1934) und F. Czapek (1910) bestätigen konnten, nicht aber für Fettsäuren und andere organische Säuren, mit denen ich bezüglich ihrer Giftigkeit wesentlich andere Ergebnisse erzielte. Auch der Ansicht R. Collanders ist nicht beizupflichten, der aus seinen Versuchen folgert, daß in homologen Reihen mit wachsender Länge der C-Kette die relative Lipoidlöslichkeit und Oberflächenaktivität zunimmt, womit gleichzeitig eine gesteigerte Permeationsfähigkeit verbunden sein soll. Ebensowenig habe ich auf Grund meiner Versuche eine Beziehung zwischen Molekülgröße und Diffusion feststellen können, wie sie von W. Ruhland, H. Ullrich und G. Yamaha (1933) für *Beggiatoa mirabilis*

angegeben wird. Die Verfasser fanden nämlich, daß die Grenzkonzentrationen der organischen Säuren innerhalb der genannten Reihen mit zunehmender Molekülgröße abnehmen. Die daraus gezogene Folgerung, daß nur die Säure-Anionen osmotisch wirksam sind, erscheint mir daher nicht allgemein gültig (s. a. J. Gicklhorn (1931)).

Besonders bei der von mir gewählten Versuchsanordnung mit längerer Einwirkungsdauer und in Anwesenheit genügender Mengen von Nährstoffen verlieren infolge der früher erwähnten Ausgleichserscheinungen auch osmotische Vorgänge sehr an Bedeutung. Ebenso erwähnt H. Nakano (1917), daß bei seinen Versuchen mit einigen Chlorophyceen eine Abtötung durch osmotischen Druck nicht anzunehmen ist.

Wie H. Kaho (s. S. 100) für Salze Quellung und Entquellung über den Durchtritt der Ionen entscheiden läßt, so sieht auch K. Förster (1933) denselben Zusammenhang zwischen Quellung und erhöhter Durchlässigkeit einerseits sowie Entquellung und verminderter Durchlässigkeit andererseits als Ursache der Giftwirkung bei organischen Säuren an. Für die Geschwindigkeit des Eindringens eines bestimmten Stoffes sind seine Molekülgröße entsprechend der Ultrafiltertheorie und der Quellungszustand der Wand entscheidend. Bei Buttersäure, Weinsäure und Citronensäure, die trotz hohen Molekular-Volumens sofort eindringen, soll die Tatsache, daß sie auf die Wand stark quellend wirken, als Erklärung gelten. Zu anderen Ergebnissen kommen T. Tomita (1924) und S. Yumikura (1925) bei ihren Modellversuchen mit Gelen. Danach nehmen Quellung und Permeabilitätsvermögen in der Reihenfolge: Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure ab. Auch P. Frenzel (1929) gibt an, daß die Permeationsgeschwindigkeit mit zunehmendem Molekulargewicht abnimmt. Bei meinen Versuchen konnte ich auch Quellung beobachten. Jedoch gestattete die Kleinheit der Objekte keine genaue Messung, so daß ich es unentschieden lassen muß, wie weit das Quellungsvermögen der Zellwand durch die einzelnen Säuren beeinflußt wird.

Während allgemein anerkannt wird, daß die organischen Säuren wesentlich schneller in die Zellen permeïren als die stark dissoziierten Mineralsäuren und Basen (s. E. Gellhorn (1929)), so ist die Frage nicht entschieden, wie man sich im einzelnen das Eindringen der Säuren vorzustellen hat. W. Benecke (1907) rechnet z. B. die Ameisensäure und Essigsäure zu den mittelstarken Säuren, die in Lösung zu etwa 10% dissoziiert sind, und weist darauf hin, daß außer reinen Ionenwirkungen auch noch andere Momente wie Diffusionsverhältnisse, Stoffumsetzungen im Zellinhalt usw. zur Erklärung der Giftwirkung in Betracht gezogen

werden müssen (s. a. R. Höber (1926)). M. Gompel (1925) stellt folgende nach abnehmender Permeabilität geordnete Reihe auf: Tri-, Di- und Monochloressigsäure, Propionsäure, Buttersäure und Citronensäure, Essigsäure, Ameisensäure, Milchsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure, Salzsäure. Ebenso schwer permeabel wie Salzsäure sind: Oxalsäure, Weinsäure und Äpfelsäure. Er bemerkt dazu: „Die erhaltene Reihe hat keine Beziehung zu Dissoziation, Molekulargewicht, Molekülgröße, Oberflächenspannung, Löslichkeit in Wasser oder Lipoiden." M. Brooks-Moldenhauer (1923) teilt die untersuchten Säuren in zwei Gruppen ein, indem sie zu der ersten Gruppe die langsamer eindringenden Säuren, nämlich Salzsäure, Salpetersäure, Schwefelsäure, Arsensäure, Phosphorsäure, Oxalsäure, Citronensäure, Weinsäure und Mono-, Di- und Trichloressigsäure, die sämtlich mehr oder weniger stark dissoziiert sind, zusammenfaßt, während sie in einer zweiten Gruppe mit Essigsäure, Buttersäure, Salicylsäure und Benzoesäure die schwachen und schnell eindringenden Säuren vereinigt. Dabei wird die Frage nach ursächlichen Zusammenhängen offen gelassen und nur die Möglichkeit von chemischer Verbindung mit dem Protoplasma, Lipoidlöslichkeit, Salzwirkung und Teilungskoeffizienten angedeutet. K. Linsbauer (1915) ordnete nach steigendem Dissoziationsgrad die organischen Säuren wie folgt: Propionsäure, Buttersäure, Essigsäure, Ameisensäure, Äpfelsäure, Citronensäure, Weinsäure. Er zog daraus die Folgerung, daß die Giftigkeit von den H-Ionen bedingt sei, weil die Säuren betreffs ihrer Giftigkeit gegenüber Euglenen in äquivalenten Mengen von gleicher Wirkung waren. Daß bei den Oxysäuren mit dem Eintritt der OH-Gruppen infolge Herabsetzung der Oberflächenaktivität nach F. Czapek (1911) eine verminderte Giftwirkung verbunden sei, konnte Linsbauer nur für die einbasischen Oxysäuren bestätigen, während bei den mehrbasischen mit zunehmendem Molekulargewicht die molare Grenzkonzentration abnahm. Im Zusammenhang damit stellte er fest, daß der Citronensäure eine besonders starke Wirkung zukommt. Demgegenüber steht die Beobachtung H. Zumsteins (1900), der bei Versuchen mit *Euglena gracilis* feststellte, daß die Citronensäure sehr gut ertragen wurde.

F. Czapek (1911) kommt auf Grund der Tatsache, daß die von ihm u. a. angewendete Oxalsäure, Essigsäure und Salicylsäure in äquimolekularen Lösungen die gleiche toxische Wirkung äußerten, zu der Folgerung, die H-Ionen dafür verantwortlich zu machen (s. a. V. Grafe (1922)), während eine spezifische Wirkung der Anionen als unbedeutend außer acht gelassen werden kann. Auch F. Brambring (1930) schloß aus seinen Versuchen mit reinen Säuren, die das Ergebnis hatten:

„. . . . daß die H-Ionenkonzentration, die einem pH-Wert von 3,30 entspricht, in kurzer Zeit tödlich wirkt", auf den vorwiegenden Einfluß der H-Ionen. Eine ausschließliche Wirkung der H-Ionen fand W. Brenner (1918) u. a. bei Salzsäure, Äpfelsäure und Citronensäure, während dagegen durch undissoziierte Moleküle bzw. Anionen u. a. Ameisensäure, Essigsäure und Salicylsäure wirksam sind; bei der Oxalsäure und Weinsäure sollen beide Wirkungsweisen vereinigt sein. Eine ähnliche Ansicht vertritt Z. E. Becker (1936), der zu den durch H-Ionen wirkenden Säuren außer den Mineralsäuren die Oxalsäure und Citronensäure rechnet, zu der durch undissoziierte Moleküle wirkenden Gruppe dagegen außer Kohlensäure die Essigsäure und Valeriansäure stellt, da sie schon bei beträchtlich höherem pH genau so giftig sind wie die Säuren der ersten Gruppe. Nach H. Nakano (1917) wird die Giftwirkung anorganischer und organischer freier Säuren nur durch die undissoziierten Moleküle hervorgerufen. Daß fast nur die undissoziierten Moleküle der Essigsäure permeïren und schädlich sind, bestätigen ferner J. Reichel (1911) sowie R. Collander, O. Turpeinen und E. Fabritius (1931).

Man ersieht aus den eben genannten Zitaten, daß die einzelnen Forscher in ihren Ansichten sehr stark voneinander abweichen. Der Grund dafür ist vornehmlich darin zu suchen, daß die Autoren mit verschiedenen Versuchsobjekten gearbeitet und eine verschiedene Methodik angewandt haben.

Die beste Übereinstimmung mit meinen Resultaten habe ich bei W. Stiles und W. J. Rees (1935) gefunden. Die beiden Verfasser stellten bei ihren Versuchen — sie benutzten dazu Kartoffeln — mit sämtlichen Gliedern der Fettsäure-Reihe bis zur Pelargonsäure fest, daß von Ameisensäure bis Propionsäure die Toxizität fällt, um dann mit wachsender Länge der C-Kette, also von der Buttersäure bis zur Pelargonsäure, in der Weise anzusteigen, daß jede folgende Säure zweimal so giftig ist wie die vorhergehende. Das Zitat über die Ergebnisse dieser Autoren bei W. W. Lepeschkin (1937), wonach das Minimum der Giftigkeit erst bei Valeriansäure erreicht sein soll, muß auf einem Irrtum beruhen. W. Stiles und W. J. Rees folgern aus ihren Resultaten, daß die H-Ionenkonzentration allein zur Erklärung der Giftwirkung nicht ausreicht, da nur bei den ersten drei Gliedern Toxizität und Dissoziationsgrad ungefähr parallel gehen, während bei weiter zunehmender Molekülgröße trotz mehr und mehr abnehmender Dissoziation die Giftigkeit wächst. Nach ihrer Ansicht setzt sich die Giftwirkung als Resultante aus den beiden Komponenten H-Ionen- und undissoziierte Säure + Anionen-Konzentration additiv zusammen.

Meine Versuche mit den ersten vier Gliedern der Fettsäurereihe ergeben, wenn man die Befunde von ein und zwei Versuchstagen in Betracht zieht, dasselbe Resultat: Abnahme der Giftigkeit von Ameisensäure über Essigsäure zu Propionsäure und Zunahme der Giftigkeit bei der Buttersäure. Wenn man dagegen längere Zeiträume berücksichtigt, so ändern sich die Ergebnisse insofern, als die Propionsäure nach 5-tägiger Einwirkung giftiger als die Buttersäure ist und nach 10-tägiger Versuchsdauer auch noch die Essigsäure übertrifft. Die H-Ionenkonzentration und daher auch die von ihr ausgehende Wirkung ist, wie die Zahlentafeln zeigen (s. S. 78ff), überall annähernd die gleiche. Wenn diese jedoch allein für die Giftwirkung in Frage käme, müßten die Säuren in nahezu äquivalenten Mengen — man muß nämlich die verringerte Dissoziation bei Verlängerung der C-Kette berücksichtigen — gleiche Effekte hervorrufen. Das ist aber nicht der Fall; denn um dieselbe Giftwirkung zu erzielen, muß man in der Reihenfolge Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure die molare Säurekonzentration erhöhen. Damit wächst die Menge undissoziierter Moleküle, und ihr Einfluß kann sich nun in zunehmendem Maße auf das Protoplasma auswirken, was sich indessen erst nach längerer Zeit, wie im Fall der Propionsäure (siehe oben), bemerkbar macht. Mit zunehmender CH_2-Zahl im Säuremolekül sinkt die Dissoziation weiter und der H-Ioneneinfluß wird geringer, während die von den undissoziierten Säuremolekülen ausgehende tödliche Wirkung wächst, wie im Fall der Buttersäure, die sich als fast so giftig wie die Essigsäure erweist. Auch die Tatsache, daß nach 30-tägiger Einwirkung von der Ameisensäure = $^1/_5$, Essigsäure = $^1/_6$, Propionsäure = $^1/_8$, Buttersäure = $^1/_9$ der anfänglichen H-Ionenkonzentration die gleiche Toxizität hervorruft, berechtigt zu der Folgerung im Sinne von S t i l e s und R e e s (siehe oben), daß die Summe von H-Ionen und undissoziierten Säuremolekülen die Giftigkeit der Fettsäuren bedingt. Die Anionen dürften dabei nur eine sehr unbedeutende Rolle spielen.

Trotz Anwesenheit zweier ionisierbarer H-Atome im Molekül sind Äpfelsäure und Weinsäure wesentlich ungiftiger als die Fettsäuren. Man führt das auf den Eintritt der OH-Gruppen zurück; da die Weinsäure deren zwei hat, wirkt sie schwächer als die Äpfelsäure. Jedoch tritt bei meinen Versuchen auch hier in Erscheinung, daß nach längerer Einwirkung die Toxizität der Weinsäure überwiegt, was wiederum dafür spricht, daß der Einfluß der überwiegend vorhandenen undissoziierten Moleküle bei Weinsäure nach einiger Zeit die H-Ionenwirkung der Äpfelsäure übertrifft. Die dreibasische Citronensäure erwies sich bei mir wie bei H. Z u m s t e i n im Gegensatz zu K. L i n s -

bauer — beide Autoren benutzten Euglenen als Versuchsobjekte — am ungiftigsten von allen untersuchten organischen Säuren. Sie hat wie die Äpfelsäure eine OH-Gruppe im Molekül und wirkt wie diese auch hauptsächlich durch ihre H-Ionen. Diese Annahme bestätigen meine Versuche, aus denen hervorgeht, daß gleiche toxische Wirkungen nach 10-tägiger Einwirkung bei Äpfelsäure und Citronensäure von 70% H-Ionen, bei Weinsäure dagegen von 16% H-Ionen — wenn die H-Ionenkonzentration am Anfang gleich 100 gesetzt wird — erzielt werden. Oxalsäure, die bekanntlich ein starkes Plasmagift ist, wirkt auf Grund ihrer starken Dissoziation vorwiegend durch die H-Ionen.

Infolge ihres Phenolcharakters ist die starke antiseptische Wirkung der Salicylsäure sehr oft zur Bakterienvernichtung benutzt worden. Ihre keimtötende Wirkung führen S. Hermann und R. Neiger (1936) auf das schnelle Eindringungsvermögen zurück, wobei es zu Verbindungen mit lebenswichtigen Bestandteilen kommen soll. Bei ihrer Anwendung auf die Protococcales erwies sie sich als die wirksamste der untersuchten organischen Säuren. Da sie stärker dissoziiert ist als die Ameisensäure, liegt meines Erachtens der Hauptanteil ihrer Toxizität ebenfalls bei den H-Ionen[1]).

Auf Grund meiner zahlreichen Versuche kann ich nach fallender Giftigkeit geordnet folgende Reihe für organische Säuren aufstellen:

Salicylsäure, Ameisensäure, Oxalsäure, Essigsäure, Buttersäure, Propionsäure, Äpfelsäure, Weinsäure, Citronensäure.

Es ist in diesem Zusammenhang von Bedeutung, daß M. E. Collet (1921) bei den Infusorien *Paramaecium* und *Euplotes* die gleiche Reihenfolge bezüglich der Giftigkeit, nämlich Salicylsäure > Ameisensäure > Essigsäure > Buttersäure > Propionsäure > Citronensäure gefunden hat.

Die meinen Säuren zugehörigen Dissoziationskonstanten sind nach den Tabellen von Landolt-Börnstein (1936) für:

Salicylsäure = $1{,}4 \cdot 10^{-3}$, Ameisensäure = $2{,}14 \cdot 10^{-4}$, Oxalsäure = $2{,}4 \cdot 10^{-2}$, Essigsäure = $1{,}75 \cdot 10^{-5}$, Buttersäure = $1{,}54 \cdot 10^{-5}$, Propionsäure = $1{,}32 \cdot 10^{-5}$, Äpfelsäure = $3{,}99 \cdot 10^{-4}$, Weinsäure = $9{,}2 \cdot 10^{-4}$, Citronensäure = $8{,}0 \cdot 10^{-4}$.

Man ersieht hieraus, daß Dissoziationsgrad und Toxizität nicht parallel gehen. Zusammenfassend kann man sagen, daß anfangs die H-Ionen überwiegend schädigen, während nach längerer Einwirkungsdauer auch andere Faktoren, wahrscheinlich die undissoziierten Moleküle mit

[1]) J. Traube (1919) bringt die Wirkung der Salicylsäure in Zusammenhang mit ihrer starken Oberflächenaktivität.

der Giftwirkung in Zusammenhang gebracht werden müssen. Auch die verschiedene Anordnung der Atomgruppen im Säuremolekül ist sicherlich bei spezifischen Giftwirkungen von Einfluß.

Bemerkenswert sind die Ergebnisse, die H. Fitting (1928) bei Untersuchungen über Chemodinese, d. h. Auslösung von Plasmaströmung durch Chemikalien, mit *Vallisneria* erhalten hat. Bei etwa 0,001 mol lösten Strömung aus: Propionsäure, Buttersäure und Weinsäure, während bei Äpfelsäure die untere Schwelle undeutlich war. Von Citronensäure wurde bei dieser Konzentration keine Strömung ausgelöst. Die geringste oder keine Wirkung hatten die ein- und zweibasischen Säuren mit kurzer C-Kette, nämlich Ameisensäure, Essigsäure und Oxalsäure. Der Autor weist ebenfalls darauf hin, daß die Wirkung der freien Säuren nicht allein durch die H-Ionen bedingt wird.

3. Wirkung von Phenolen

Viele Phenole sind als wirksame Antiseptika bekannt. Besonders die einwertigen, z. B. Phenol[1]), fälschlich Carbolsäure genannt, und die drei Kresole haben sich z. B. stark bakterizid erwiesen, während das zweiwertige Brenzcatechin von geringerer antiseptischer Wirkung ist.

Zu meinen Untersuchungen benutzte ich Phenolum absolutum nach DAB 6 (Pyrokatechin) in kristallisierter Form, während ein Gemisch der drei Kresole, nach DAB 6 mit „Kresolum crudum" bezeichnet, als Lösung verwandt wurde. In letzterer wurde der Gehalt an m-Kresol, das am wirksamsten ist, nach der Raschig-Methode zu 96% ermittelt.

Versuchsanordnung:

Es wurden 100-ccm-Kochkolben mit abgewogenen Kristallmengen von Phenol und Brenzcatechin bzw. abgemessener Menge Kresollösung sowie mit je 20 ccm Jacobsen-Nährlösung beschickt und auf 100 ccm mit Aqua dest. aufgefüllt. Die pH-Messung erfolgte elektrometrisch. Während Phenol- und Brenzcatechinkristalle wasserlöslich waren, bildete das Kresol in dem Wasser nach kräftigem Schütteln eine Art feiner Suspension. Die Flüssigkeitsmengen wurden zu je 50 ccm auf 2 Kolben verteilt und die Beimpfung mit *Ankistrodesmus Braunii* bzw. *Scenedesmus obliquus* in der früher angegebenen Weise vorgenommen. Nach Vorversuchen, die der Ermittlung des Bereiches dienten, in dem der Tötungswert zu finden war, wurden bis zu 15 Tagen Reihenversuche mit folgenden Konzentrationsstufen angestellt:

---

[1]) Nach R. Kolkwitz (1927) kann Phenol bis zu einer gewissen Verdünnungsgrenze sogar Nährstoff für niedere Organismen (besonders Schimmelpilze) sein.

Zahlentafel 30.
Konzentrations-Intervalle in %

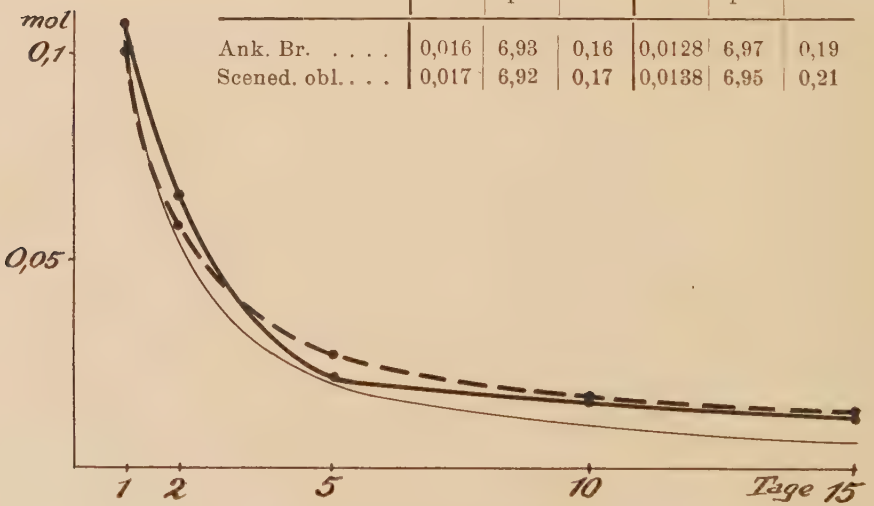
Versuchszeit in Tg.	1	2	5	10	15
Phenol	0,05	0,05	0,05	0,03	0,02
Kresolum crudum	0,05	0.05	0,02	0,01	0,01
Brenzcatechin	0,5	0,2	0,2	0,1	0,1

Die mikroskopische Kontrolle der Rückimpfungen, die nach Ablauf der jeweiligen Versuchszeiten auf Nähragarplatten vorgenommen worden waren, ergab nach 14 Tagen folgende Zahlentafeln, die auch graphisch dargestellt sind (s. Kurve 19—21).

Zahlentafel 31.

Art	1. Tag			2. Tag			5. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br.	0,106	6,58	0,11	0,064	6,80	0,13	0,0213	6,90	0,11
Scened. obl. . .	0,101	6,68	0,10	0,058	6,83	0,12	0,0266	6,89	0,13

Art	10. Tag			15. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br.	0,016	6,93	0,16	0,0128	6,97	0,19
Scened. obl. . . .	0,017	6,92	0,17	0,0138	6,95	0,21

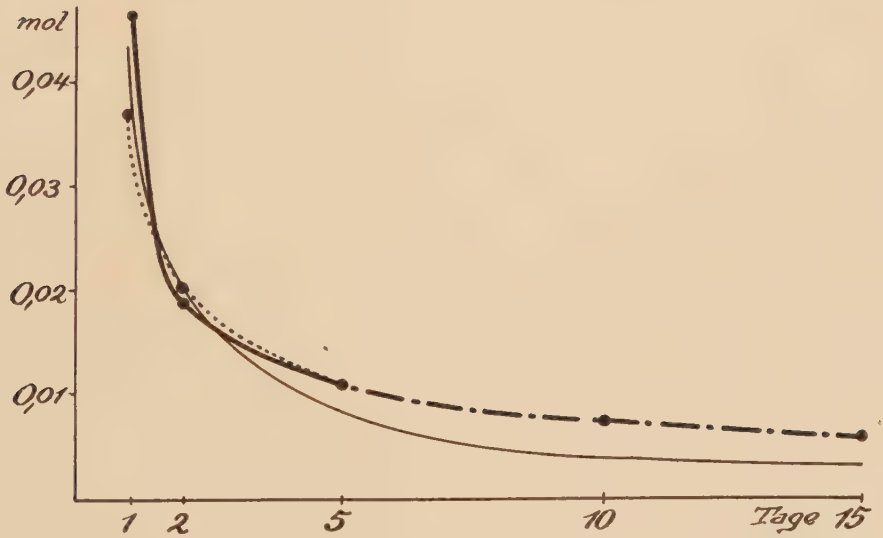


Kurve 19. Tödlich wirkende Konzentrationen von Phenol (+ 1/5 verd. Jacobsen-Nährlösung) nach verschieden langer Einwirkungsdauer.
Zeichenerklärung: ——— *Ankistrodesmus Braunii*
— — — *Scenedesmus obliquus*
——— Intensität · Zeit = k.

Zahlentafel 32.

Art	1. Tag			2. Tag			5. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank Br. . . .	0,0464	6,70	0,046	0,0185	6,76	0,037	0,0111	6,80	0,056
Scened. obl. . .	0,037	6,72	0,037	0,0204	6,75	0,041	„	„	„

Art	10. Tag			15. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br.	0,0074	6,82	0,074	0,0056	6,83	0,084
Scened. obl. . . .	„	„	„	„	„	„



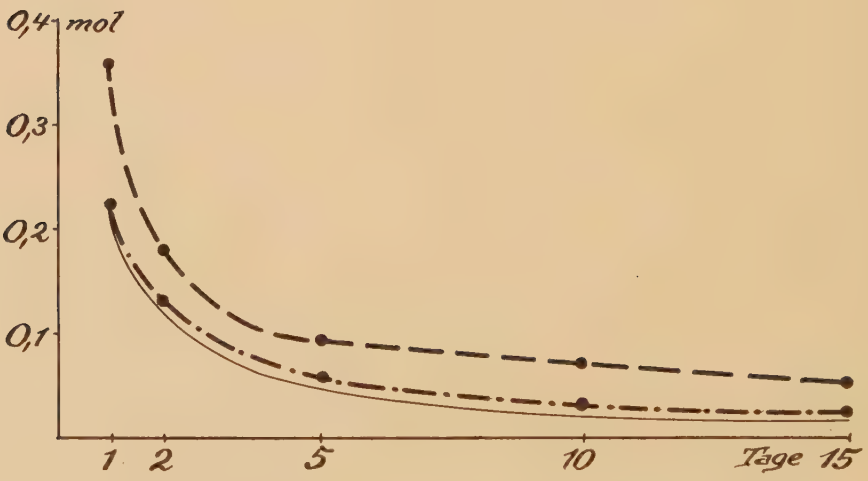
Kurve 20. Tödlich wirkende Konzentrationen von Kresolum crudum (+ 1/5 verd. Jacobsen-Nährlösung) nach verschieden langer Einwirkungsdauer.

Zeichenerklärung: —·—·— *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus*
Ankistrodesmus Braunii
Scenedesmus obliquus
Intensität · Zeit = k.

Zahlentafel 33.

Art	1. Tag			2. Tag			5. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br. (So. V.)	0,364	6,40	0,36	0,182	6,74	0,36	0,091	6,81	0,46
Ank. Br. (Wi. V.)	0,227	6,70	0,23	0,127	6,78	0,25	0,0545	6,84	0,27
Scened. obl. . .	„	„	„	„	„	„	„	„	„

Art	10. Tag			15. Tag		
	mol	pH	I · t	mol	pH	I · t
Ank. Br. (So. V.)	0,068	6,83	0,68	0,0455	6,85	0,68
Ank. Br (Wi. V.)	0,0273	6,86	0,27	0,0182	6,87	0,27
Scened. obl. . .	„	„	„	„	„	„



Kurve 21. Tödlich wirkende Konzentrationen von Brenzcatechin (+ 1/5 verd. Jacobsen-Nährlösung) nach verschieden langer Einwirkungsdauer.

Zeichenerklärung: — . — . — *Ankistrodesmus Braunii* und *Scenedesmus obliquus* (Winter-Versuch)
— — — *Ankistrodesmus Braunii* (Sommer-Versuch)
———— Intensität · Zeit = k.

Aus den Zahlentafeln und Kurven ist zu ersehen, daß für alle 3 Phenole übereinstimmend ziemlich genau das Reizmengengesetz Gültigkeit hat. Von nicht unerheblichem Interesse war die Feststellung, daß in den Versuchen mit Brenzcatechin bei *Ankistrodesmus Braunii*, die im Hochsommer angestellt wurden, die tödlichen Konzentrationen wesentlich über den im Winter unter sonst gleichen Bedingungen erhaltenen Werten lagen. Es ergibt sich daraus, daß auch der jahreszeitliche Einfluß hinsichtlich der Widerstandskraft der Algen von Bedeutung ist (s. H. Fitting (1915)). Bei den mit beiden Arten gleichzeitig unternommenen Versuchen zeigte es sich, daß sie gegenüber Brenzcatechin in gleicher Weise reagierten. Dagegen unterschieden sie sich in ihrer Empfindlichkeit gegenüber Phenol und Kresol. Während bei kurzer Versuchsdauer in beiden Fällen *Ankistrodesmus Braunii* widerstandsfähiger war, erwies sich *Scenedesmus obliquus* gegenüber Phenol nach 5 Tagen, gegenüber Kresol nach 2 Tagen als unempfindlicher, um sich im letzteren Falle vom 5. Tage an ebenso wie *Ankistrodesmus Braunii* zu verhalten.

Auf diese auch bei anderen Versuchen schon aufgetretenen Unterschiede und ihre Erklärungsmöglichkeiten habe ich früher hingewiesen.

Über die Wirkung dieser Phenole auf andere als die von mir untersuchten Algen liegen mehrere Arbeiten vor. Einige Untersuchungsergebnisse anderer Autoren sind in folgender Zahlentafel kurz zusammengestellt:

Zahlentafel 34.

Algenart	Organische Verbindungen	Menge in mol	Zeit	Wirkung	Autor
Chlorococcum infusionum	Phenol	$6 \cdot 10^{-4}$		††	J. Kessler (1937)
Spirogyren	Phenol	0,0106	3 Tg.	o	O. Loew (1893)
Spirogyren	Phenol	0,106	20-30 Min.	††	O. Loew (1893)
Chlorococcum infusionum	Kresol	$3{,}3 \cdot 10^{-4}$		†	J. Kessler (1937)
Chlorococcum infusionum	Kresol	$6 \cdot 10^{-4}$		††	J. Kessler (1937)
Fadenalgen	Brenzcatechin	0,0091	nach einigen Std.	††	O. Loew (1893)
Diatomeen	Brenzcatechin	0,0091	nach wenigen Min.	††	O. Loew (1893)

Zeichenerklärung: o = ohne Wirkung
† = von schädlicher Wirkung
†† = von tödlicher Wirkung.

Vergleichsweise fällt hierbei auf, daß die Giftresistenz meiner beiden Protococcales die anderer Algen mehrfach übertrifft. Selbst die ziemlich nahverwandte Art *Chlorococcum infusionum* erwies sich als sehr empfindlich sowohl gegenüber Phenol als auch Kresol. Daß jedoch diese zweifellos unter sehr verschiedenen Bedingungen erhaltenen Resultate nicht zu weitgehenden Folgerungen berechtigen, habe ich später an anderer Stelle erörtert.

Hinsichtlich ähnlicher Versuche mit Pilzen halte ich für erwähnenswert, daß C. Meißner (1902) bei *Aspergillus niger* und *Mucor stolonifer* eine tödliche Wirkung mit 0,12 % (= 0,0128 mol) Phenol erzielt hat, während *Penicillium glaucum* selbst 0,06 % (= 0,0064 mol) Phenol nicht mehr ertrug. Da diese Versuche ebenfalls in Nährlösungen angestellt wurden, so sind die Ergebnisse den meinigen vergleichbar. Aus der Tatsache, daß die zuerst genannte Konzentration bei meinen Versuchen erst nach 15 Tagen und letztere vermutlich erst nach 30 Tagen toxisch wirkt, geht wiederum die überlegene Widerstandsfähigkeit der von mir benutzten Algen hervor.

Bei Robert Koch (1912) findet sich die Angabe, daß Phenol in einer Konzentration von 0,5 — 2,0% (= 0,053 — 0,212 mol) sicher desinfizierend nur auf die noch nicht in Dauerform übergegangenen Mikroorganismen wirkt. Wenn diese Werte auch den von mir erhaltenen sehr nahe kommen, so ist doch in Betracht zu ziehen, daß Robert Koch wohl hauptsächlich die Bakterien meint, für die allgemein eine ganz andere Versuchsanordnung getroffen wird, so daß sich hieraus nicht allgemeine Parallelen ziehen lassen.

Ursache der Giftigkeit

Das Ergebnis meiner Versuche ist nach abnehmender Giftigkeit geordnet die Reihenfolge:

Kresol, Phenol, Brenzcatechin.

Da sie nur im geringen Maße Säurecharakter haben, so liegen die pH-Werte auch bei den stärkeren Konzentrationen wenig unter dem Neutralpunkt, so daß die Wirkung von H-Ionen kaum von Bedeutung sein dürfte. Daß die Desinfektionskraft in der Hauptsache den undissoziierten Molekülen zuzuschreiben ist, stellten auch W. Benecke (1904) und K. Spiro und Scheurlen (1897) fest. Nach Ansicht der letztgenannten Verfasser gehören die Phenole zu denjenigen Antisepticis, die chemisch nicht gebunden werden, während O. Loew (1893) im Gegensatz dazu aus den nach Phenolbehandlung bei Spirogyren auftretenden körnigen Ausscheidungen auf die Wahrscheinlichkeit von

Phenol-Eiweißverbindungen schließt. Um etwas ähnliches dürfte es sich bei den von mir besonders deutlich nach Behandlung mit Kresol beobachteten Granulationserscheinungen handeln (s. Abb. 23). Loews Feststellung, daß die Salicylsäure weit schwächer als Phenol wirkt, kann ich nicht bestätigen, da sich bei meinen Versuchen im Gegenteil die Salicylsäure als bedeutend giftiger erwies. Auch aus den Angaben C. Meißners (1902) geht hervor, daß die Salicylsäure auf *Aspergillus niger, Penicillium glaucum* und *Mucor stolonifer* stärker wirkt. Nach F. Czapek (1910) schädigt Phenol bei einer Konzentration über $^n/_{10}$ die Plasmamembran und läßt die Gerbstoffe von *Echeveria* und *Spirogyra* herausdiffundieren, so daß die Coffein-Reaktion ausbleibt. H. Schneider (1906) schreibt die desinfizierenden Eigenschaften der Phenole in erster Linie der OH-Gruppe zu. Dem-

Abb. 23. Granulationserscheinungen nach 5tägiger Einwirkung von 0,011 mol Kresolum crudum-Lösung (+ Nährlösung).
a: *Ankistrodesmus Braunii*. b: *Scenedesmus obliquus*. (Vergr. 1500:1).

gegenüber steht mein und anderer Autoren Ergebnis, wonach Brenzcatechin mit 2 OH-Gruppen im Molekül am schwächsten wirkt. Meines Erachtens ist mit wachsender Zahl der OH-Gruppen wie bei den Säuren der aliphatischen Reihe eine steigende Abschwächung hinsichtlich der Giftwirkung verbunden. Während o- und p-Kresol nach Th. Bokorny (1896) gleichstarke toxische Eigenschaften besitzen, gilt heute allgemein das m-Kresol als die giftigste der 3 Isomeren. Es war zu 96% in meiner Kresolum crudum-Lösung vorhanden, so daß dem m-Kresol der weitaus überwiegende Anteil der Giftwirkung zuerkannt werden muß. Der diese vielleicht beeinträchtigende Einfluß der OH-Gruppe wird wahrscheinlich durch die Methylgruppe vollkommen unterdrückt, so daß letztere offenbar für die erhöhte Toxizität dem Phenol gegenüber verantwortlich zu machen ist. Auch J. Keßler (1937) erzielte mit Kresolum crudum die größte Desinfektionswirkung bei Versuchen mit *Chlorococcum infusionum.* Freilich betrachtet er m- und p-Kresol als gleich stark wirksam, während Phenol dahinter zurückbleibt. J. Traube (1919) deckte die Zusammenhänge zwischen desinfizierender Kraft und Oberflächenaktivität auf. Danach steigen diese vom Phenol zu den Kresolen und nehmen ab vom Phenol zum Brenzcatechin, was mit meinen Resul-

taten übereinstimmt. Auch H. D. Cheeseworth und E. A. Cooper (1929) sind der Auffassung, daß die Kresole stärkere Desinfizientien als Phenol sind und auch wirksamere Protein-Fällungsmittel. L. F. Shackell (1923) kommt bei seinen Versuchen mit *Limnoria lignorum* zu der gleichen Reihe (nach absteigender Giftigkeit geordnet): Kresole, Phenol, Brenzcatechin usw. In den Mittelpunkt seiner Betrachtung hinsichtlich der Giftwirkung stellt der Autor 2 Punkte: 1. die Verteilung eines Phenols zwischen Wasser und Lipoiden des Protoplasmas und 2. die Anhäufung oder Koagulation von Proteinteilchen. Mit der stärkeren Wirkung von Phenol und Kresol soll die größere Löslichkeit und damit Anreicherung in den lipoidhaltigen Schichten verbunden sein, während eine Zunahme der OH-Gruppen vermehrte Wasserlöslichkeit zur Folge haben soll. Obwohl diese Beobachtungen an einem animalischen Objekt gemacht worden sind, möchte ich auch die mehr oder weniger große Lipoidlöslichkeit der Phenole als mitwirkenden Faktor bei der Beurteilung der Toxizität für pflanzliche Objekte in den Vordergrund stellen.

Die bei den Versuchsobjekten gemachten Beobachtungen dürfen nicht verallgemeinert werden, da die individuelle Widerstandskraft und die mögliche Anpassungsfähigkeit eines jeden Organismus nicht zu unterschätzende Variable sind, wofür auch spezifische Unterschiede der Lipoide bzw. Lipoidgemische der Plasmahäute verschiedener Zellarten nach W. Wilbrandt (1931) verantwortlich zu machen sind, da sie die Aufnahmefähigkeit der Objekte entscheidend beeinflussen. Um Parallelen und Unterschiede bei den einzelnen Formen aufdecken zu können, muß daher eine Prüfung möglichst vieler Faktoren mit Hilfe verschiedenster Agenzien bei zahlreichen Arten vorgenommen werden. Daraus wird sich dann die Möglichkeit ergeben, zu einigermaßen sicheren Schlußfolgerungen zu kommen.

IV. Zusammenfassung

Als geeignetste Kulturlösung für die als Untersuchungsobjekte dienenden Protococcales *Ankistrodesmus Braunii* (Nägeli) Brunnthaler und *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing erwies sich die Jacobsen-Nährlösung bei zweifacher Verdünnung, deren Anteil in den Versuchslösungen mit Algengiften stets $^1/_5$ war.

Für den genauen Nachweis der Schädigung wurden verschiedene Methoden auf ihre Eignung hin geprüft. Am besten bewährte sich die Rückimpfung auf Nähragarplatten, wobei die nach 14 Tagen eingetretene

oder ausgebliebene Vermehrung der Versuchs-Algen als Kriterium der Giftwirkung der benutzten Lösungen diente.

Bei Untersuchungen über die Zusammenhänge zwischen pH des Nährmediums und Vermehrungsintensität bzw. Form der Algen wurde festgestellt, daß das optimale Wachstum beider Arten zwischen den Grenzen pH — 6,2 und pH — 8,2 lag, und sich nach ca. 3 Wochen der Übergang zum Dactylococcus-Stadium vollzog, was mit der eintretenden Erschöpfung der Nährlösung in Zusammenhang gebracht wurde. Bei *Ankistrodesmus Braunii* traten unter gewissen Bedingungen einige Formen auf, die als Rückbildung zum Ausgangsstadium gedeutet wurden.

Als äußerste untere und obere pH-Werte von Lösungen, in denen einige Algen während 24 Stunden lebensfähig blieben, wurden bei Zugabe von HCl bzw. NaOH zur Nährlösung für *Ankistrodesmus Braunii* die pH- Werte 0,58 bzw. 13,4 und für *Scenedesmus obliquus* die pH-Werte 0,50 bzw. 13,7 ermittelt. Eine Vermehrung wurde noch festgestellt für erstere Art bei pH = 3,3 und pH — 10,5, für letztere bei pH = 3,3 und pH — 11,2 innerhalb von 5 Tagen. Es zeigte sich, daß die H-Ionen giftiger waren als die OH-Ionen.

Ferner wurden die tödlich wirkenden Konzentrationen für *Ankistrodesmus Braunii* bei 21% NaCl und 16% KCl nach 2 Tagen und bei 9% NaCl und 11% KCl nach 5 Tagen, für *Scenedesmus obliquus* bei 23% NaCl und 29% KCl nach 2 Tagen und 19% NaCl und 26% KCl nach 5 Tagen bestimmt. Dabei ergab sich, daß KCl bei kürzerer Versuchsdauer für beide Arten giftiger war als NaCl, während bei längerer Einwirkung NaCl für *Scenedesmus obliquus* das stärkere Gift war.

Für die organischen Säuren konnte folgende Giftigkeitsreihe aufgestellt werden: Salicylsäure > Ameisensäure > Oxalsäure > Essigsäure > Buttersäure > Propionsäure > Äpfelsäure > Weinsäure > Citronensäure.

Bei den Phenolen war das Ergebnis die nach abnehmender Giftigkeit geordnete Reihenfolge: Kresol, Phenol, Brenzcatechin.

Für die angewandten organischen Säuren (mit Ausnahme der Oxysäuren) und für die drei Phenole konnte das Reizmengengesetz Intensität · Zeit = constans bestätigt werden.

Aus den Versuchen ergab sich, daß die Giftigkeit der organischen Säuren weder eine reine H-Ionenwirkung ist, noch sich ausschließlich auf die undissoziierten Moleküle zurückführen läßt, sondern daß beide Bestandteile dabei von Bedeutung sind. Bei kürzerer Versuchsdauer scheinen die H-Ionen in erster Linie wirksam zu sein, während bei länger dauernder Einwirkung der Einfluß der undissoziierten Moleküle immer mehr zunimmt.

Die Giftwirkung der Phenole wird hauptsächlich durch ihre undissoziierten Moleküle und die Neigung, mit dem Eiweiß des Protoplasmas Verbindungen einzugehen, hervorgerufen.

Die Tatsache, daß sich in den meisten Fällen *Scenedesmus obliquus* widerstandsfähiger als *Ankistrodesmus Braunii* zeigte, dürfte damit in Zusammenhang stehen, daß erstere Art die größere Fähigkeit und Neigung besitzt, in das Dactylococcus-Stadium überzugehen, womit eine weitgehend schützende Anpassung erzielt zu sein scheint.

An Hand der beobachteten Giftwirkungen der genannten chemischen Agenzien auf die Algen wurden die Möglichkeiten der Wechselwirkungen zwischen Fremdkörper einerseits und Zellwand bzw. Protoplasma andererseits erörtert. Inwieweit sich dabei im einzelnen Adsorption, Dissoziation, elektrische Ladung, Koagulationswirkung, Lipoidlöslichkeit, Oberflächenspannung, Quellung, Viscosität u. a. geltend machen, konnte bei der angewandten Art physiologischer Methodik nur angedeutet werden. Abschließend muß gesagt werden, daß keine der bestehenden Permeabilitätstheorien in ihrer jetzigen Form alle in diesem Zusammenhang auftretenden Erscheinungen restlos zu erklären vermag.

V. Schrifttum

Andreesen, H.: Beiträge zur Kenntnis der Physiologie von Scenedesmus acutus Meyen. Dissertation, Kiel 1913.

Arens, K.: Physiologisch polarisierter Massenaustausch und Photosynthese bei submersen Wasserpflanzen. (I) Planta 1933, **20,** S. 621—658; (II) Jb. wiss. Bot. 1936, **83,** S. 513—560.

Artari, A.: Der Einfluß der Konzentration der Nährlösungen auf die Entwicklung einiger Algen. (I) Jb. wiss. Bot. 1904, **40,** S. 593—613; (II) Jb. wiss. Bot. 1906, **43,** S. 177—212; (III) Jb. wiss. Bot. 1909, **46,** S. 443—452.

Bachmann, H.: Über die Giftwirkung von chemischen Substanzen auf niedere Wasserorganismen. Z. f. Hydrolog. 1934, **6,** S. 105—126.

Bärlund, H.: Permeabilitätsstudien an Epidermiszellen von Rhoeo discolor. Acta Bot. Fennica 1929, **5,** S. 7—117.

Balbach, H.: Beiträge zur Kenntnis der Nekrose des pflanzlichen Protoplasmas. Protoplasma 1938, **29,** S. 228—245.

Becker, Z. E.: A comparison between the action of carbonic acid and other acids upon the living cell. Protoplasma 1936, **25,** S. 161—175.

Benecke, W.: Über Kulturbedingungen einiger Algen. Bot. Ztg. 1898, I. Abt., **56,** S. 83—96.

— Einige neuere Untersuchungen über den Einfluß von Mineralsalzen auf Organismen. (Sammelreferat.) Bot. Ztg. 1904, II. Abt., **62,** S. 113—126.

— Giftwirkungen. In F. Lafar, Handb. d. techn. Mykologie. I. Jena 1904—07, S. 482—500.

Benecke, W.: Über die Giftwirkungen verschiedener Salze auf Spirogyra und ihre Entgiftung durch Calzium-Salze. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 1907, **25**, S. 322—337.

Boas, F.: Das phyletische Anionenphänomen. Jena 1927.

Bode, H. R.: Untersuchungen über die Abhängigkeit der Atmungsgröße von der H-Ionenkonzentration bei einigen Spirogyra-Arten. Jb. wiss. Bot. 1926, **65**, S. 352—387.

Bokorny, Th.: Über die Einwirkung basischer Stoffe auf das lebende Protoplasma. Jb. wiss. Bot. 1888, **19**, S. 206—220.

— Vergleichende Studien über die Giftwirkung verschiedener chemischer Substanzen bei Algen und Infusorien. Pflüg. Arch. 1896, **64**, S. 262—306.

— Grenze der wirksamen Verdünnung von Nährstoffen bei Algen und Pilzen. Biol. Zbl. 1897, **17**, S. 417—426.

— Pilzfeindliche Wirkung chemischer Stoffe. Chemische Konservierung. Zbl. Bakt. II, 1913, **37**, S. 168—267.

Boresch, K.: Die Färbung von Cyanophyceen und Chlorophyceen in ihrer Abhängigkeit vom N-Gehalt des Substrates. Jb. wiss. Bot. 1913, **52**, S. 145—185.

Brambring, F.: Untersuchungen über die Wirkung des Aluminiums auf Wasserpflanzen. Jb. wiss. Bot. 1930, **73**, S. 241—299.

Brenner, W.: Studien über die Empfindlichkeit und Permeabilität pflanzlicher Protoplasten für Säuren und Basen. Oefers. af Finsk. Vetensk. Soc. Förhandl. 1917—18, **60**, Afd. A, Nr. 4.

— Über die Wirkung von Neutralsalzen auf die Säureresistenz, Permeabilität und Lebensdauer der Protoplasten. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 1920, **38**, S. 277—285.

Brooks-Moldenhauer, M.: The penetration of cations into living cells. Journ. Gen. Physiol. 1922, **4**, S. 347—349.

— Studies on the permeability of living and dead cells. I. New quantitative observations on the penetration of acids into living and dead cells. Publ. Health. Rep., U. S. A. 1923, **38, I**, S. 1449—1470.

— II. Observations on the penetration of alkali bicarbonates into living and dead cells. Publ. Health. Rep., U. S. A. 1923, **38, I**, S. 1470—1477.

— III. The penetration of certain alkalis and ammonium salts into living and dead cells. Publ. Health. Rep., U. S. A. 1923, **38, II**, S. 2074—2086.

— IV. The penetration of trivalent and pentavalent arsenic into living and dead cells. Publ. Health. Rep., U. S. A. 1923, **38,II**, S. 2951—2965.

Brunnthaler, J.: Die systematische Gliederung der Protococcales. Verh. k. k. zool.-bot. Ges. Wien, 1913, **63**, S. 76—91.

— Systematische Übersicht über die Chlorophyceen-Gattung Scenedesmus Meyen. Hedwigia 1913, **53**, S. 164—172.

Carter, F. M.: Studies on toxic action. VIII. The toxicity of normal aliphatic alcohols towards various plant tissues. Protoplasma 1934, **21**, S. 615—629.

Cheeseworth, H D. u. E. A. Cooper: A contribution to our knowledge of disinfectant action. (III) The Journ. of Physic. Chem. 1929, **33**, S. 720—728.

Chodat, R.: Matériaux pour servir à l'histoire des Protococcoidées (II) Bull. Herb. Boiss. 1895, **III,3**, S. 109—111.

— A propos du polymorphisme des Algues vertes. Arch. d. Sc. phys. et nat. Genève 1897, **III**, S. 70—74.

— Algues vertes de la Suisse. Berne 1902.

— Etude critique et expérimentale sur le polymorphisme des Algues. Genève 1909.

— Monographies d'Algues en Culture pure. (Matériaux pour la Flore Cryptogam. de la Suisse). Berne 1913.

— Scenedesmus. Etude de Génétique, de Systématique expérimentale et d'Hydrobiologie. Rev. d'Hydrologie, Aarau 1926, III, Nr. 3—4.

— u. O. Malinesco: Sur le polymorphisme du Sceneesmus acutus Meyen. Bull. Herb. Boiss. 1893, **I**, S. 184—190.

— — Sur le polymorphisme du Raphidium Braunii et du Scenedesmus caudatus Corda. Bull. Herb. Boiss. 1893, **I**, S. 640—643.

Clark, J. F.: On the toxic effect of deleterious agents on the germination and development of certain filamentous fungi. Bot. Gaz. 1899, **28**, S. 289—327; 378—404.

— Electrolytic dissociation and toxic effect. Journ. phys. Chem. 1899, **3**, S. 263—316.

Collander, R.: Über die Permeabilität pflanzlicher Protoplasten für Sulfosäurefarbstoffe. Jb. wiss. Bot. 1921, **60**, S. 354—410.

— Über die Durchlässigkeit der Kupferferrocyanidniederschlagsmembran für Nichtelektrolyte. Kolloidchem. Beih. 1924, **19**, S. 72—105.

— Über die Durchlässigkeit der Kupferferrocyanidmembran für Säuren nebst Bemerkungen zur Ultrafiltertheorie des Protoplasmas. Kolloidchem. Beih. 1925, **20**, S. 273—287.

— Einige neuere Ergebnisse und Probleme der botanischen Permeabilitätsforschung. Schrift. d. Physik.-ökon. Ges. Königsberg (Pr.), 1937, **69**, S. 251—266.

— Permeability. Ann. Rev. of Biochem. 1937, **6**, S. 1—18.

— The permeability of plant protoplasts to nonelectrolytes. Transact. of the Faraday Society No. 196, 1937, **33**, Teil 8, S. 985—990.

— u. H. Bärlund: Über die Protoplasmapermeabilität von Rhoeo discolor. Soc. Scient. Fennica, Comm. Biol. II, 9, 1926.

— — Permeabilitätsstudien an Chara ceratophylla. Act. Bot. Fennica, 1933, **11**, S. 1—114.

—, O. Turpeinen u. E. Fabritius: Die Permeabilität der Rhoeo-Zellen für Ammoniak und Essigsäure. Protoplasma 1931, **13**, S. 348—362.

Collet, M. E.: The toxicity of acids to infusoria. II. The rôle of molecules and ions. Journ. exp. Zool. 1921, **34**, S. 67—74.

— III. Antagonism of the toxic action of acids by inorganic chlorids. Journ. exp. Zool. 1921, **34**, S. 75—93.

Comère, J.: De l'influence de la composition chimique du millieu sur la végétation de quelques Algues Chlorophycées. Bull Soc. Bot. France, 1905, **52**, S. 226—241.

Czapek, F.: Über Fällungsreaktionen in lebenden Pflanzenzellen und einige Anwendungen derselben. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 1910, **28**, S. 147—159.

— Versuche über Exosmose aus Pflanzenzellen. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 1910, **28**, S. 159—169.

— Über die Oberflächenspannung und den Lipoidgehalt der Plasmahaut in lebenden Pflanzenzellen. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 1910, **28**, S. 480—487.

— Über eine Methode zur direkten Bestimmung der Oberflächenspannung der Plasmahaut von Pflanzenzellen. Jena 1911.

— Ausblicke auf biologische Adsorptionserscheinungen. Jb. wiss. Bot. 1915, **56**, S. 207—216.

— Biochemie der Pflanzen. 3. Aufl., Bd. I—III, Jena 1922—25.

Czurda, V.: Conjugatae. In: K. Linsbauer, Handb. d. Pflanzenanatomie. VI, 2. Teilbd.: Algen, Berlin 1937.

Dorner, A.: Über die Aufnahme von Anilinfarbstoffen in das Protoplasma und die Zellwand. (Sammelreferat.) Zbl. Bakt. II, 1922, **56**, S. 27—31.

Drechsel, O.: Zur Kenntnis der sog. oligodynamischen Erscheinungen. Ein Beitrag zur Physiologie der Giftwirkung. Zbl. Bakt. II, 1921, **53**, S. 288—311.

Eiselsberg, C. v.: Ionenantagonismus und Giftwirkungen an Spirogyra. I. Über Ionenantagonismus ein- und zweiwertiger Kationen und deren Giftwirkung auf Spirogyra zellen. Biolog. Generalis 1937, **13**, S. 529—560.

Eisenberg, Ph.: Untersuchungen über spezifische Desinfektionsvorgänge. II. Mittlg.: Über die Wirkung von Salzen und Ionen auf Bakterien. Zbl. Bakt. I, 1919, **82**, S. 69—208.

Endler, J.: Über den Durchtritt von Salzen durch das Protoplasma. I. Mitlg.: Über die Beeinflussung der Farbstoffaufnahme in die lebende Zelle durch Salze. Biochem. Z. 1912, **42**, S. 440—469.

— II. Mittlg.: Über eine Methode zur Bestimmung des isoelektrischen Punktes des Protoplasmas auf Grund der Beinflussung des Durchtrittes von Farbstoffen durch OH- und H-Ionen. Biochem. Z. 1912, **45**, S. 359—411.

Eschenhagen, F.: Über den Einfluß von Lösungen verschiedener Konzentrationen auf das Wachstum von Schimmelpilzen. Dissert., Leipzig 1889.

Fitting, H.: Untersuchungen über die Aufnahme von Salzen in die lebende Zelle. Jb. wiss. Bot. 1915, **56**, S. 1—64.

— Untersuchungen über Chemodinese bei Vallisneria. Jb. wiss. Bot. 1928, **67**, S. 427—596.

Förster, K.: Quellung und Permeabilität der Zellwand von Rhizoclonium. Planta 1933, **20**, S. 476—505.

Frenzel, P.: Über die Porengrößen einiger pflanzlicher Zellmembranen. Planta 1921, **8**, S. 642—665.

Gellhorn, E.: Das Permeabilitätsproblem, seine physiologische und allgemein-pathologische Bedeutung. Berlin 1929.

Gemeinhardt, K.: Über die Wirkung von aktivem Chlor auf Wasserpflanzen. Kl. Mitt. Ver. Wass.-, Bod.-, Lufthyg. 1926, **2**, S. 124—130.

Gicklhorn, J.: Entwicklung und gegenwärtiger Stand einiger Probleme und Ziele der Vitalfärbung. Erg. d. Physiol. 1931, **31**, S. 388—420.

— Zur Diskussion einiger grundsätzlicher Fragen der Vitalfärbung. Membranfärbung an lebenden und toten tierischen oder pflanzlichen Zellen und Organen. Biol. Zbl. 1931, **51**, S. 469—491.

— Zur Diskussion der Grundlagen und Beweise der Ultrafiltertheorie der Permeabilität. Protoplasma 1931, **13**, S. 567—591.

Gompel, M.: Sur la pénétrabilité des acides dans les cellules d'Ulva Lactuca. Ann. d. Physiol. 1925, **1**, S. 166—177.

Grafe, V.: Chemie der Pflanzenzelle. Berlin 1922.

— Methodik der Permeabilitätsbestimmung bei Pflanzenzellen. In: Abderhalden, Handb. d. biol. Arbeitsmeth. 1924, Abt. **11**, Teil 2, S. 29—79.

— Anwendung von Adsorption und Kapillarität zur chemischen Analyse. In: Abderhalden, Handb. d. biol. Arbeitsmeth. 1924, Abt. **11**, Teil 2, S. 81—104.

Grintzesco, J.: Recherches expérimentales sur la morphologie et la physiologie de Scenedesmus acutus Meyen. Bull. Herb. Boiss. 1902, **2**, S. 217—264.

Grossmann, E.: Zellvermehrung und Koloniebildung bei einigen Scenedesmaceen. Intern. Rev. ges. Hydrobiol. 1921, **9**, S. 371—394; 417—450.

Gurewitsch, A.: Versuche über die Ionen-Permeabilität einer homogenen flüssigen Membran. Protoplasma 1934, **20**, S. 561—569.

Handovsky, H.: Leitfaden der Kolloidchemie. 2. Aufl. Dresden und Leipzig 1925.

Hansteen-Cranner, B.: Beiträge zur Biochemie und Physiologie der Zellwand und der plasmatischen Grenzschichten. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 1919, **37**, S. 380—391.

— Zur Biochemie und Physiologie der Grenzschichten lebender Pflanzenzellen. Meld. f. Norges Landbruckshoiskole 1922, **2**, S. 1—160.

Harvey, E. N.: A criticism of the indicator method of determining cell permeability for alkalis. Americ. Journ. of Physiol. 1913, **31**, S. 335—342.

— The permeability of cells. Journ. of exp. Zool. 1911, **10**, S. 507—556.

— The permeability of cells for acids. Int. Z. f. phys.-chem. Biol. 1914, **1**, S. 463—478.

Heilbrunn, L. V.: The colloid chemistry of protoplasm. Protoplasma-Monogr. 1. Berlin 1928.

Hermann, S. u. R. Neiger: Die Giftwirkung einiger chemischer Verbindungen auf Tilletia tritici als Maß für die Permeabilität. Zbl. Bact. II, 1936, **93**, S. 137—141.

Höber, R.: Zur Kenntnis der Neutralsalzwirkungen. Beitr. z. chem. Physiol. u. Path. 1908, **11**, S. 35—64.

— Die Durchlässigkeit der Zellen für Farbstoffe. Biochem. Z. 1909, **20**, S. 56—99.

— Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 6. Aufl. Leipzig 1926.

— Der Stoffaustausch zwischen Protoplast und Umgebung. Handb. d. norm. u. path. Physiol. 1. Allgem. Physiol. Berlin 1927.

Höber, R. u. O. Nast: Weitere Beiträge zur Theorie der Vitalfärbung. Biochem. Z. 1913, **50**, S. 418—436.

Höfler, K.: Permeabilitätsbestimmung nach der plasmometrischen Methode. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 1918, **36**, S. 414—422.

— Neuere Ergebnisse der vergleichenden Permeabilitäts-Forschung. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 1934, **52**, S. 355—372.

— Nekroseformen pflanzlicher Zellen. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 1938, **56**, S. 451—473.

— u. Fr. Weber: Die Wirkung der Äthernarkose auf die Harnstoffpermeabilität von Pflanzenzellen. Jb. wiss. Bot. 1926, **65**, S. 643—737.

Hofmeister, F.: Zur Lehre von der Wirkung der Salze. III. Arch. für exp. Pathologie u. Pharmakologie 1888, **25**, S. 1—30.

Hofmeister, L.: Vergleichende Untersuchungen über spezifische Permeabilitätsreihen. Bibl. Bot. 1935, H. 113.

Holdheide, W.: Über einen eigenartigen Fall von Plasmoptyse. Biol. Zbl. 1930, **50**, S. 705—712.

Huber, B. u. H. Schmidt: Plasmolyse und Permeabilität. Protoplasma 1934, **20**, S. 203—208.

Jörgensen, H.: Die Bestimmungen der Wasserstoffionenkonzentration. In: Liesegang, Wiss. Forschungsber. (Naturwiss. Reihe) 1935, **34**.

Kaczmarek, A.: Untersuchungen über Plasmolyse und Deplasmolyse in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration. Protoplasma 1929, **6**, S. 209—301.

Kadelbach, E.: Über Säureresistenz und Rassenbildung bei Aspergillus niger. Jb. wiss. Bot. 1931, **75**, S. 399—438.

Kahlenberg, L. u. R. H. True: On the toxic action of dissolved salts und their electrolytic dissociation. Bot. Gaz. 1896, **22**, S. 81—124.

Kaho, H.: Zur Kenntnis der Neutralsalzwirkungen auf das Pflanzenplasma (II). Biochem. Z. 1921, **120**, S. 125—141.

— Ein Beitrag zur Giftwirkung der Schwermetalle auf das Pflanzenplasma (III). Biochem. Z. 1921, **122**, S. 39—42.

— Ein Beitrag zur Permeabilität des Pflanzenplasmas für Neutralsalze (IV). Biochem. Z. 1921, **123**, S. 284—303.

— Über die Beeinflussung des Pflanzenplasmas durch die Salze der Erdalkalien (VI). Biochem. Z. 1924, **151**, S. 102—111.

— Über die physiologische Wirkung der Neutralsalze auf das Pflanzenplasma. Act. et Comment. Univers. Dorpat. A. V. 4 1924, S. 161—165.

— Das Verhalten der Pflanzenzellen gegen Salze. Ergeb. d. Biol. I. Berlin 1926, S. 380—406.

— Ionenwirkung der Erdalkalien auf das Pflanzenplasma (VII). Biochem. Z. 1926, **167**, S. 25—37.

— Das Verhalten der Pflanzenzellen gegen Schwermetallsalze. Planta 1933, **18**, S. 664—682.

Kattermann, G.: Über Neutralsalzwirkungen bei Pilzen und Bakterien. Ein Beitrag zum phyletischen Ionenphänomen. Bot. Arch. 1930, **28**, S. 73—176.

Keller, R.: Moleküle und Ionen im Plasma. Biochem. Z. 1928, **195**, S. 14—19.

Kemmer, E.: Beobachtungen über die Lebensdauer isolierter Epidermen. Arch. f. exp. Zellforsch. 1928, **7**, S. 1—68.

Kessler, J.: Biologische und toxikologische Versuche mit der Alge Chlorococcum infusionum. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 1937, **47**, S. 171—224.

Kiesel, A.: Chemie des Protoplasmas. Protoplas.-Monogr. 4. Berlin 1930.

Klemm, P.: Desorganisationserscheinungen der Zelle. Jb. wiss. Bot. 1895, **28**, S. 627—700.

Koch, R.: Gesammelte Werke, Bd. 1, Leipzig 1912.

Kolkwitz, R.: Über das Verhalten der niederen Organismen zu den Phenolen. Kl. Mitt. Ver. Wass.- Bod.-, Lufthyg. 1927, **3**, S. 304—306.

— Pflanzenphysiologie. 3. Aufl. Jena 1935.

Krieger, W.: Die Desmidiaceen der Deutschen Limnologischen Sunda-Expedition. Arch. f. Hydrobiol. 1932, Suppl. Bd. 11, Nr. 1, S. 129—230.

Krizenecky, J.: Einige Experimente über die verschiedene Giftigkeit von OH- und H-Ionen. Pflüg. Arch. 1916, **164**, S. 137—166.

Krönig, B. u. Th. Paul: Über das Verhalten der Bakterien zu chemischen Reagenzien. Z. f. phys. Chem. 1896, **21**, S. 414—450.

Küster, E.: Über die Aufnahme von Anilinfarben in lebende Pflanzenzellen. Jb. wiss. Bot. 1911, **50**, S. 261—298.

— Anleitung zur Kultur der Mikroorganismen. 3. Aufl. Leipzig und Berlin 1921.

— Pathologie der Pflanzenzelle. Teil 1: Pathologie des Protoplasmas. Protoplasma-Monogr. **3.** Berlin 1929.

— Die Pflanzenzelle. Jena 1935.

Kufferath, H.: La culture des algues. Publ. de la rev. algolog. Paris 1930.

Landolt-Börnstein: Physikalisch-chemische Tabellen. 3. Erg.-Bd., Teil 3, 5. Aufl., Berlin 1936.

Lepeschkin, W. W.: Über die Struktur des Protoplasmas. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 1911, **29**, S. 181—190.

— Zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung der Plasmamembran. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 1911, **29**, S. 247—261.

— Kolloidchemie des Protoplasmas. Berlin 1924.

— Über den Zusammenhang zwischen mechanischen und chemischen Schädigungen des Protoplasmas und die Wirkungsart einiger Schutzstoffe. Protoplasma 1927, **2**, S. 239—270.

— Zell-Nekrobiose und Protoplasma - Tod. Protoplasma - Monogr. **12.** Berlin 1937.

Linsbauer, K.: Notiz über die Säureempfindlichkeit der Euglenen. Österr. Bot. Z. 1915, **65**, S. 12—21.

Loeb, J.: Chemische Konstitution und physiologische Wirksamkeit der Säuren. Biochem. Z., 1909, **15**, S. 254—271.

— u. M. Kunitz: Valency rule and alledge Hofmeister series in the kolloidal behavior of proteins. I and II. Journ. Gen. Physiol. 1923, **5**, S. 665—692; 693—707.

Loew, O.: Über die physiologischen Funktionen der Ca- und Mg-Salze im Pflanzenorganismus. Flora 1892, **75**, S. 368—394.

— Natürliches System der Giftwirkungen. München 1893.

Lundegårdh, H.: Zelle und Zytoplasma. In: K. Linsbauer, Handb. d. Pflanzenanatomie, 1. Abt., Teil 1, Bd. 1. Berlin 1922.

— Die Nährstoffaufnahme der Pflanzen. Jena 1932.

— u. V. Moràvek: Untersuchungen über die Salzaufnahme der Pflanzen. Biochem. Z. 1924, **151**, S. 296—309.

Meissner, C.: Accomodationsfähigkeit einiger Schimmelpilze. Dissert., Leipzig 1902.

Mengarini, M. T. u. A. Scala: Über die chemische Durchlässigkeit lebender Algen- und Protozoenzellen für anorganische Salze und die spezifische Wirkung letzterer. Biochem. Z. 1909, **17**, S. 443—489.

Michaelis, L.: Die Wasserstoffionenkonzentration. I. Berlin 1922—27.

Migula, W.: Über den Einfluß stark verdünnter Säurelösungen auf Algenzellen. Dissert., Breslau 1888.

— Algen. In: Kryptogamenflora von Deutschland, Deutsch-Österreich und der Schweiz. Gera 1907, **2**, 1; 1909, **2**, 2.

Molisch, H.: Die Ernährung der Algen. (I) Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss. zu Wien. Math.-naturwiss. Kl., Abtl. 1, 1895, **104**, S. 783—800.

— Die Ernährung der Algen. (II) Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss. zu Wien. Math.-naturwiss. Kl. Abtl. 1, 1896, **105**, S. 633—648.

Nägeli, C. v.: Über oligodynamische Erscheinungen in lebenden Zellen. Neue Denkschr. d. allgem. Schweiz. Ges. f. d. ges. Naturwiss. 1893, **33**.

Nakano, H.: Untersuchungen über die Entwicklungs- und Ernährungsphysiologie einiger Chlorophyceen. Journ. of the Coll. of Science, Tokio 1917, **40**, Art. 2.

Oettli, M.: Recherches expérimentales sur cinq espèces élémentaires d'Ankistrodesmus. Bull. Soc. Bot. Genève 1927, **19**, S. 1—91.

Osterhout, W. J. V.: The effect of alkali on permeability. Journ. biol. Chem. 1914, **19**, S. 335—343.

— The effect of acid on permeability. Journ. biol. Chem. 1914, **19**, S. 493—501.

— Antagonism between acids and salts. Journ. biol. Chem. 1914, **19**, S. 517—520.

— On the decrease of permeability due to certain bivalent cations. Bot. Gaz. 1915, **59**, S. 317—330.

— Is living protoplasm permeable to ions? Journ. Gen. Physiol. 1925, **8**, S. 131—146.

Overton, E.: Über die osmotischen Eigenschaften der lebenden Pflanzen- und Tierzelle. Vierteljahresschr. d. Naturf. Ges. in Zürich 1895, **40**, S. 159—201.

— Über die osmotischen Eigenschaften der Zelle in ihrer Bedeutung für Toxikologie und Pharmakologie. Vierteljahresschr. d. Naturf. Ges. in Zürich 1896, **41**, S. 383—406.

Overton, E.: Über die allgemeinen osmotischen Eigenschaften der Zelle, ihre vermutlichen Ursachen und ihre Bedeutung für die Physiologie. Vierteljahresschr. d. Naturf. Ges. in Zürich 1899, **44**, S. 88—135.

— Studien über die Aufnahme der Anilinfarben durch die lebende Zelle. Jb. wiss. Bot. 1900, **34**, S. 669—701.

Pantanelli, E.: Über Ionenaufnahme. Jb. wiss. Bot. 1915, **56**, S. 689—733.

— Über Ionenaufnahme (Sammelreferat). Protoplasma 1929, **7**, S. 129—137.

Pfeffer, W.: Osmotische Untersuchungen. Leipzig 1877.

— Über Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen. Unters. aus dem Bot. Inst. zu Tübingen, Bd. 2, H. 2, Leipzig 1886, S. 179—332.

Pirschle, K.: Zur physiologischen Wirkung homologer Ionenreihen. Jb. wiss. Bot. 1930, **72**, S. 335—368.

— u. H. Mengdehl: Ionenaufnahme aus Salzlösungen durch die höhere Pflanze. I. Jb. wiss. Bot. 1931, **74**, S. 297—363.

Poijaervi, L. A. P.: Über die Basenpermeabilität pflanzlicher Zellen. Act. Bot. Fennica 1928, **4**, S. 7—102.

Port, J.: Über die Wirkung der Neutralsalze auf das Durchdringen der H-Ionen durch das Pflanzenplasma. Biochem. Z. 1925, **166**, S. 105—115.

— Über die Wirkung der Neutralsalze auf das Durchdringen der OH-Ionen durch das Pflanzenplasma. Biochem. Z. 1926, **170**, S. 377—385.

— Die Wirkung der Neutralsalze auf die Koagulation des Protoplasmas bei Paramaecium caudatum. Protoplasma 1927, **2**, S. 401—419.

Pràt, S.: Plasmolyse und Permeabilität. Biochem. Z. 1922, **128**, S. 557—567.

— Wasserstoffionenkonzentration und Plasmolyse. Kolloid-Z. 1926, **40**, S. 248—251.

Pringsheim, E. G.: Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. I. Die Kultur von Algen auf Agar. Beitr. z. Biol. d. Pfl. 1912, **11**, S. 305—332.

— Algenkultur. In: Abderhalden, Handb. d. biol. Arbeitsmeth., Abtl. 11, Teil 2, 1924, S. 377—406.

— Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. V. Methoden und Erfahrungen. Beitr. z. Biol. d. Pfl. 1926, **14**, S. 283—312.

Printz, H.: Chlorophyceen. In: Engler-Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien. 2. Aufl. Bd. 3. Leipzig 1927.

Reichel, J.: Über das Verhalten von Penicillium gegenüber der Essigsäure und ihren Salzen. Biochem. Z. 1911, **30**, S. 152—159.

— u. K. Spiro: Ionenwirkung und Antagonismus der Ionen. Handb. d. norm. u. path. Physiol. 1. Allgem. Physiol. Berlin 1927, S. 486—530.

Richter, A.: Über die Anpassung der Süßwasseralgen an Kochsalzlösungen. Flora 1892, **75**, S. 4—56.

Richter, O.: Die Ernährung der Algen. Monogr. u. Abh. z. intern. Rev. d. ges. Hydrobiol. u. Hydrogr. Bd. 2. Leipzig 1911.

Ritter, G. E.: Die giftige und formative Wirkung der Säuren auf die Mucoraceen und ihre Beziehung zur Mucorhefebildung. Jb. wiss. Bot. 1913, **52**, S. 351—403.

Roberg, M.: Ein Beitrag zur Stoffwechselphysiologie der Grünalgen. (I). Jb. wiss. Bot. 1930, **72**, S. 369—384.

— Ein Beitrag zur Stoffwechselphysiologie der Grünalgen. (II). Jb. wiss. Bot. 1932, **76**, S. 311—332.

Ruhland, W.: Zur Frage der Ionenpermeabilität. Z. f. Bot. 1909, **1**, S. 747—762.

— Beiträge zur Kenntnis der Permeabilität der Plasmahaut. Jb. wiss. Bot. 1909, **46**, S. 1—54.

— Studien über die Aufnahme von Kolloiden durch die pflanzliche Plasmahaut. Jb. wiss. Bot. 1912, **51**, S. 376—431.

— Zur Kritik der Lipoid- und der Ultrafiltertheorie der Plasmahaut nebst Beobachtungen über die Bedeutung der elektrischen Ladung der Kolloide für ihre Vitalaufnahme. Biochem. Z. 1913, **54**, S. 59—77.

— Zur chemischen Organisation der Zelle. Biol. Zbl. 1913, **33**, S. 337—351.

— Weitere Beiträge zur Kolloidchemie und physikalischen Chemie der Zelle. Jb. wiss. Bot. 1914. **54**, S. 391—447.

— u. C. Hoffmann: Beiträge zur Ultrafiltertheorie des Plasmas. Ber. d. Sächs. Akad. d. Wiss., Leipzig 1924, **76**, S. 47—62.

— — Zur Kenntnis der Rolle des elektrischen Ladungssinnes bei der Kolloidaufnahme durch die Plasmahaut. Planta 1926, **1**, S. 1—83.

—, H. Ullrich u. G. Yamaha: Über den Durchtritt von Elektrolyten mit organischem Anion und einwertigem Kation in die Zellen von Beggiatoa mirabilis nebst allgemeinen Bemerkungen zum Problem der Salzpermeabilität. Planta 1933, **18**, S. 338—382.

Růžička, V.: Über tinctorielle Differenzen zwischen lebendem und abgestorbenem Protoplasma. Pflüg. Arch. 1905, **107**, S. 497—534.

Sander, P.: Das Winkler'sche Verfahren unter Benutzung von Tabletten. Kl. Mitt. Ver. Wass.-, Bod.-, Lufthyg. 1935, **11**, S. 189—194.

Scarth, G. W.: The action of cations on the contraction and viscosity of protoplasm in Spirogyra. Quart. J. exper. Physiol. 1924, **14**, S. 115—122.

— The penetration of cations into living protoplasm. Americ. Journ. Bot. 1925, **12**, S. 133—148.

Schilow, N. u. B. Nekrassow: Adsorption und chemische Natur einiger organischer Verbindungen. Z. f. phys. Chem. 1927, **130**, S. 65—72.

Schindler, H.: Tötungsart und Absterbebild. I. Der Alkalitod der Pfanzenzelle. Protoplasma 1938, **30**, S. 186—205.

— II. Der Säuretod der Pflanzenzelle. Protoplasma 1938, **30**, S. 547—569.

Schneider, E.: Plasmolyse als Kennzeichen lebender Zellen. Z. wiss. Mikroskop. 1925, **42**, S. 45—54.

Schneider, H.: Ein Beitrag zur Kenntnis der Phenole in Verbindung mit Säuren und Gemischen mit Seifen vom chemischen und bakteriologischen Standpunkt aus. Z. f. Hyg. 1906, **53**, S. 116—138.

Schönfelder, S.: Weitere Untersuchungen über die Permeabilität von Beggiatoa mirabilis nebst kritischen Ausführungen zum Gesamtproblem der Permeabilität. Planta 1931, **12**, S. 414—504.

Seifriz, W.: Reaction of protoplasm to salts and antagonistic action of salts and alcohol. Bot. Gaz. 1923, **76**, S. 389—402.

— Observations on the reaction of protoplasm to some reagents. Ann. of Bot. 1923, **37**, S. 489—509.

Scheurlen: Die Bedeutung des Molekularzustandes der wassergelösten Desinfektionsmittel für ihren Wirkungswert. Arch f. exp. Path. u. Pharm. 1896, **37**, S. 74—87.

Schubert, K. u. K. Richter: Einiges über den Chemismus der bakterioziden Wirkung von Phenolen. Zbl. f. Bakt. II,, 1926, **66**, S. 11—16.

Senn, G.: Über einige Kolonie-bildende einzellige Algen. Bot. Ztg. 1899, **57**, S. 39—104.

Shackell, L.: Studies in protoplasm poisoning. I. Phenols. Journ. Gen. Physiol. 1923, **5**, S. 783—805.

Smith, G. M.: The cell structure and colony formation in Scenedesmus. Arch. f. Protistenkd. 1914, **32**, S. 278—297.

Spek, J.: Über den heutigen Stand der Probleme der Plasmastrukturen. Naturwiss. 1925, **13**, S. 893—900.

Spiro, K. u. H. Bruns: Zur Theorie der Desinfektion. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1898, 41, S. 355—374.

— u. Scheurlen: die gesetzmäßigen Beziehungen zwischen Lösungszustand und Wirkungswert der Desinfektionsmittel. Münch. med. Wschr. 1897, Nr. 4, S. 81—84.

Stapp, C. u. W. Bucksteeg: Untersuchungen über die Beeinflußbarkeit mikrobiologischer Vorgänge im Boden durch das Unkrautbekämpfungsmittel $NaClO_3$. Zbl. Bakt. II, 1937, **97**, S. 1—33.

Stiles, W.: Permeability. London 1924.

— u. I. Jørgensen: Studies in permeability. I u. II. Ann. of Bot. 1915, **29**, S. 349—367; 611—618.

— — Studies in permeability. IV. The action of various organic substances on the permeability of the plant cell, and its bearing on Czapek's theory of the plasma membrane. Ann. of Bot. 1917, **31**, S. 47—76.

— u. W. J. Rees: Studies on toxic action. IX. The toxicity of organic acids of the formic acid series. Protoplasma 1935, **22**, S. 518—538.

Szücs, J.: Studien über Protoplasmapermeabilität. Sitzungsber.d. Akad. d. Wiss., Math.-naturwiss. Kl., Abtl. I, Wien 1910, **119**, S. 737—773.

Szücs, J.: Experimentelle Beiträge zu einer Theorie der antagonistischen Ionenwirkungen. Jb. wiss. Bot. 1912, **52**, S. 85—142.

Talts, J.: Einfluß der Schwermetallsalze auf Penicillium glaucum. Protoplasma 1932, **15**, S. 188—238.

Taylor, N. W.: Acid penetration into living tissues. Journ. Gen. Physiol. 1928, **11**, S. 207—219.

Tomita, T.: Adsorption und Osmose in Gelen. Biochem. Z. 1924, **153**, S. 335—357.

Traube, J.: Theorie der Osmose und der Narkose. Pflüg. Arch. 1904, **105**, S. 541—558.

— Die osmotische Kraft. Pflüg. Arch. 1908, **123**, S. 419—432.

— Die Theorie des Haftdrucks (Oberflächendrucks) und ihre Bedeutung für die Physiologie. Pflüg. Arch. 1910, **132**, S. 511—538.

— Theorie des Haftdrucks und Lipoidtheorie. Biochem. Z. 1913. **54**, S. 305—315.

— Die physikalische Theorie der Arzneimittel- und Giftwirkung. Biochem. Z. 1919, **98**, S. 177—196.

— Lipoidtheorie und Oberflächenaktivitätstheorie I. Biochem. Z. 1924, **153**, S. 358—361.

— u. S. Yumikura: Lipoidtheorie und Oberflächenaktivitätstheorie II. Biochem. Z. 1925, **157**, S. 383—387.

— u. F. Dannenberg: Über das Permeabilitätsproblem. Biochem. Z. 1928, **198**, S. 209—224.

—, L. J. Weber u. C. Guirini: Über Oberflächenspannung flüssig/gasförmig und Grenzflächenspannung flüssig/flüssig. Zu den Theorien der Narkose und Permeabilität. Biochem. Z. 1930, **217**, S. 400—404.

Tröndle, A.: Der Einfluß des Lichtes auf die Permeabilität der Plasmahaut und die Methode der Permeabilitäts-Koeffizienten. Vierteljahresschr. d. Naturf. Ges. in Zürich 1918, **63**, S. 187—213.

— Sur la perméabilité du protoplasme vivant pour quelques sels. Arch. d. Sc. Phys. et Nat. Genève 1918, **45**, S. 38—54; 117—132.

True, R. H.: The physiological action of certain plasmolysing agents. Bot. Gaz. 1898, **26**, S. 407—416.

— u. C. G. Hunkel: The poisonous effect exerted on living plants by phenols. Bot. Zbl. 1898, **76**, S. 289—295.

Vischer, W.: Sur le polymorphisme de l'Ankistrodesmus Braunii. Rev. d'Hydrol. 1920, année 1—2.

Walter, H.: Ein Beitrag zur Frage der chemischen Konstitution des Protoplasmas. Biochem. Z. 1921, **122**, S. 86—99.

— Plasmaquellung und Wachstum. Z. f. Bot. 1924, **16**, S. 353—417.

Wann, F. B. u. E. F. Hopkins: Relation of hydrogen-ion concentration to growth of Chlorella and to the availability of iron. Bot. Gaz. 1926, **81**, S. 353—376.

Wann, F. B. u. E. F. Hopkins: Further studies on growth of Chlorella as affected by hydrogenion concentration. Bot. Gaz. 1927, **83**, S. 194—201.

Waris (Warén), H.: Über das Calziumbedürfnis der niederen Algen. Planta 1936, **25**, S. 460—470.

Waterman, H. J.: Über einige Faktoren, welche die Entwicklung von Penicillium glaucum beeinflussen. Beitrag zur Kenntnis der Antiseptica und der Narkose. Zbl. Bakt. II. 1914, **42**, S. 639—688.

Weber, Fr.: Permeabilität der Pflanzenzelle und künstlicher Membranen. Protoplasma 1927, **1**, S. 486—496.

— Protoplasmatische Pflanzenanatomie. (Sammelreferat.) Protoplasma 1930, **8**, S. 291—306.

Wehmer, C.: Über den Einfluß der Buttersäure auf Hefe, Gärung und Bakterien. Chemiker-Ztg. 1901, **25**, S. 42; 59—60.

Wehrle, E.: Studien über Wasserstoffionenkonzentrationsverhältnisse und Besiedelung an Algenstandorten in der Umgebung von Freiburg i. Br. Z. f. Bot. 1927, **19**, S. 209—287.

Wieringa, K. T.: Quantitative Permeabilitätsbestimmungen. Protoplasma 1930, **8**, S. 522—584.

Wilbrandt, W.: Vergleichende Untersuchungen über die Permeabilität pflanzlicher Protoplasten für Anelektrolyte. Pflüg. Arch. 1931, **229**, S. 86—99.

Wille, N.: Algologische Notizen XXV. Über die Variabilität bei der Gattung Scenedesmus Meyen. Nyt. Magaz. f. Naturv. 1919, **56**, S. 1—22.

Winkler, L. W.: Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffes und die Löslichkeit des Sauerstoffes im Wasser. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 1888, **21**, S. 2843—2854.

— Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffes und die Löslichkeit des Sauerstoffes im Wasser. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 1889, **22**, S. 1764—1774.

— Über die Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffes. Z. analyt. Chem. 1914, **53**, S. 665—672.

Wischmann, J.: Über die Giftwirkung verschiedener Elektrolyte und Elektrolytgemische auf Spirogyra. Kiel 1910.

Yumikura, S.: Osmose im wässerigen Gel ohne und mit Lipoidzusatz. Biochem. Z. 1925, **157**, S. 371—376.

— Über Osmose einiger Säuren in einem Gelatinegel. Biochem. Z. 1925, **157**, S. 377—382.

Zumstein, H.: Zur Morphologie und Physiologie der Euglena gracilis Klebs. Jb. wiss. Bot. 1900, **34**, S. 149—198.

Lebenslauf

Am 12. Mai 1909 wurde ich als Sohn des Glühstrumpf-Fabrikanten Hugo Keyna nnd seiner Ehefrau Dora, geb. Marheineke in Berlin geboren. Ich bin arischer Abstammung und evangelischen Glaubens. Nach Besuch des Leibniz-Gymnasiums zu Berlin, an welchem ich Ostern 1928 die Reifeprüfung bestand, widmete ich mich den Naturwissenschaften und ihren Nachbargebieten. Ich studierte 11 Semester an der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin und 1 Semester an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn die Fächer: Biologie, Chemie, Physik, Mathematik, Mineralogie und Geologie. Vom Herbst 1933 bis Ende 1938 habe ich mich mit den chemisch-biologischen Algenversuchen für die Dissertation beschäftigt.

Im Juli 1933 trat ich in die Motor-S.A., dem heutigen Nationalsozialistischen Kraftfahr-Korps, ein und wurde am 1. Mai 1937 in die NSDAP. aufgenommen.

Meine wissenschaftliche Ausbildung verdanke ich folgenden Herren Professoren und Dozenten: Brauns, Czaja, Deegener, Diels, Feigl, Fitting, Graebner, Hartmann, Herter, Hesse, Johnsen, Kniep, Kolkwitz, Markgraf, Nernst, Noack, Schlenk, E. Schmidt, Simon, Solger, Wehnelt, Zimmer.